Aus der
Klinik für Klauentierkrankheiten und Fortpflanzungskunde
im Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

MIPTEST® - IMMUNOLOGISCHER FRÜHTRÄCHTIGKEITSTEST FÜR STUTEN

Eine Prüfung auf seine Verwendbarkeit zur Fruchtbarkeitsüberwachung der Stute in der Feldpraxis

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Johannes Konrad Degenhardt
Tierarzt aus Heiligenstadt/E.

Berlin 1978
Journal-Nr. 952

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544728_0055

Aus der
Klinik für Klauentierkrankheiten und Fortpflanzungskunde
im Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

MIPTEST® - IMMUNOLOGISCHER FRÜHTRÄCHTIGKEITSTEST FÜR STUTEN

Eine Prüfung auf seine Verwendbarkeit zur Fruchtbarkeitsüberwachung der Stute in der Feldpraxis

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Johannes Konrad Degenhardt
Tierarzt aus Heiligenstadt/E.

Berlin 1978

Journal-Nr. 952

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender des FBR	:	Prof. Dr. H.-H. Frey
Referent	:	Prof. DR. H.J. Heidrich
Korreferent	:	Prof. Dr. H. Keller

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion: 12. Dezember 1978

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
2.	MÖGLICHKEITEN DER TRÄCHTIGKEITSFESTSTELLUNG BEI DER STUTE	3
2.1.	Klinische Methoden	3
2.1.1.	Äußere Untersuchung, Adspektion und Palpation	3
2.1.2.	Vaginale Untersuchung	4
2.1.3.	Rektale Untersuchung von Uterus und Ovar	5
2.1.4.	Scheidensekretprobe (Mucintest)	16
2.2.	Biologische Methoden	17
2.2.1.	ASCHHEIM-ZONDEK-KOST- bzw. ASCHHEIM-ZONDEK-HART-COLE-Test	17
2.2.2.	Froschtest nach GALLI-MAININI	22
2.2.3.	Kaninchentest nach FRIEDMAN-SCHNEIDER	24
2.2.4.	ALLEN-DOISY-Test	25
2.3.	Chemische Methoden	27
2.3.1.	Östrogenfluoreszenztest nach CUBONI	27
2.3.2.	Modifikation der CUBONI-Reaktion	28
2.4.	Immunologische Methoden	30
2.4.1.	Hämagglutinationshemmungstest	31
2.4.2.	Geldiffusionstest	35
2.4.3.	Immunoelektrophorese	36
2.5.	Physikalische Methoden	37
3.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	37
3.1.	Tiermaterial - Auswahl der Stuten	37
3.2.	Prüfmethoden	38
3.2.1.	MIPTEST®	38
3.2.2.	Sampler - OXFORD LABORATORIES	41
3.2.3.	Hepanosticon® - Reagenzglasständer ORGANON	41
3.2.4.	Serumgewinnung	42

Seite

3.3.	Vorversuch (Originalmethode)	42
3.4.	Hauptversuch	43
4.	ERGEBNISSE	43
5.	DISKUSSION	63
6.	ZUSAMMENFASSUNG (SUMMARY)	69
7.	LITERATURVERZEICHNIS	70

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Die Feststellung der Trächtigkeit bei der Stute zu einem möglichst frühen Zeitpunkt ist eines der ältesten Probleme der Pferdezucht überhaupt. Wegen der langen Trächtigkeitsdauer und der kurzen Decksaison bleibt dem Züchter nicht viel Spielraum für eine Wiederholung der Bedeckung, wenn sich die Stute als nicht tragend erwiesen hat. Ist dann doch noch eine Gravidität zu erzielen, dann kommt als weiterer Nachteil hinzu, daß der Geburtstermin sich unerwünscht weit in das folgende Jahr hinein verlagert.

Dieses Problem spielt nicht nur in der Vollblutzucht eine große Rolle, wo die Geburtstermine so früh wie möglich im Jahr liegen sollen. Wenn die Jährlinge im späten Herbst ihres zweiten Lebensjahres auf die Rennbahn ins Training kommen, dann sollen sie so alt wie möglich sein. Der ideale Geburtstermin des Rennpferdes würde deshalb am 1. Januar liegen. Vor Beginn der Motorisierung mußte auch die Arbeitspferdstute möglichst früh im Jahr ihr Fohlen bringen, damit sie bei Beginn der Feldarbeit als Zugpferd genutzt werden konnte. In der Warmblutzucht ist ebenfalls ein früher Geburtstermin erstrebenswert, damit das im Alter von drei Jahren angerittene Reitpferd dem Züchter so früh wie möglich Nutzen durch den Verkauf als gerittenes Pferd oder durch Teilnahme an der im Frühjahr beginnenden Turniersaison bringt.

Noch vor weniger als 50 Jahren hatten Tierarzt und Pferdezüchter nur eine Möglichkeit zur Feststellung einer Gravidität bei der Stute. Sie ließ sich mit hoher Wahrscheinlichkeit aber erst zu einem sehr späten Trächtigkeitsstadium anhand des zunehmenden Leibesumfanges, der Beruhigung des Temperamentes, der Euterbildung und eventueller, in der Flanke der Mutterstute sichtbar werdender Bewegungen der Frucht erbringen.

Den wesentlichsten Fortschritt im Rahmen der Trächtigkeitsfeststellung bei der Stute brachten die Beoachtungen über die Graviditätsveränderungen des Scheidenbildes, feststellbar durch die Adspektion, und insbesondere des Uterus, feststellbar durch die rektale Exploration (ALBRECHTSEN, 1918; BENESCH, 1924; GÖTZE, 1940 a).

Die Fortschritte in der Hormonforschung und die Erkenntnisse über deren Wirkungsmechanismus führten dann zur Entwicklung von Verfahren, die über den Nachweis spezifischer, während der Gravidität vermehrt produzierter Hormone auf biologischem oder chemischem Wege mit sehr hoher Sicherheit eine Trächtigkeit bei der Stute ab etwa 40 Tage nach der Bedeckung bestätigen oder ausschließen ließen (ALLEN u. DOISY, 1923, zit. n. COWIE, 1948; ASCHHEIM u. ZONDEK, 1928; FRIEDMAN, 1929, zit. n. COWIE, 1948; SCHNEIDER, 1930, zit. n. COWIE, 1948; COLE u. HART, 1930; KOST, 1932; CUBONI, 1934, 1958; GALLI u. MAININI, 1947, zit. n. COWIE, 1948).

Diese Verfahren kamen der seit jeher bestehenden und auch heute noch nicht ganz überwundenen, jedoch völlig unbegründeten, Abneigung der Züchter gegen jegliche Manipulation im Bereich der Fortpflanzungsorgane der Stute aus Furcht vor der Provokation eines Abortes entgegen. Sie halfen aber auch dem nicht spezialisierten Tierarzt, der nur kleinere Züchter und Bestände betreut, aber eben auch für die Erreichung des Zuchtzieles verantwortlich ist, ohne die Notwendigkeit der selten geübten, und daher mit einem gewissen Unsicherheitsgefühl belasteten rektalen Graviditätsuntersuchung, mit Hilfe eines dieser Verfahren exakt und relativ frühzeitig eine Trächtigkeit zu bestätigen oder auszuschließen.

Für den geübten Gestütstierarzt war seit jeher und wird auch in Zukunft die rektale Exploration des Uterus die bevorzugte Art der Trächtigkeitsfeststellung bei der Stute sein. Abgesehen von der sofortigen Aussagemöglichkeit ist die Diagnose trächtig oder nichtträchtig bereits ab dem 18. Tag nach der Bedeckung zu stellen.

Für den nicht spezialisierten, weniger geübten Tierarzt steht heute ein Hämagglutinationshemmungstest zur Verfügung, der serologisch eine Trächtigkeitsdiagnose bei der Stute etwa zwischen dem 45. und 100. Graviditätstag innerhalb weniger Stunden ermöglicht und gegenüber den oben erwähnten Verfahren den Vorteil eines geringeren Zeitaufwandes und der Unabhängigkeit von geeigneten Versuchstieren hat.

In der vorliegenden Arbeit sollte geprüft werden, inwieweit das unter der Handelsbezeichnung MIPTEST® empfohlene Verfahren geeignet ist, unter den Bedingungen der Praxis eine bestehende Trächtigkeit bei der Stute zu einem möglichst frühen Zeitpunkt nachzuweisen beziehungsweise auszuschließen.

2. MÖGLICHKEITEN DER TRÄCHTIGKEITSFESTSTELLUNG BEI DER STUTE

Zahlreiche Methoden der Trächtigkeitsdiagnose bei der Stute sind bisher beschrieben worden. Über die eigenartigste Methode berichteten MILLER und DAY (1938). Englischen Veterinäroffizieren in "Kamelländern" waren Medizinmänner bekannt, die durch Geschmacksprobe des Harns von Kamelstuten deren Trächtigkeit bestimmen konnten. In arabischen Ländern sollen einige Stämme diese Methode auch bei Pferdestuten angewendet haben.
Im Zusammenhang mit den erst wenige Jahre zuvor gewonnenen Erkenntnissen über die extrahypophysären Gonadotropine im Harn der Frau und im Serum der Stute schien den Verfassern diese Möglichkeit der "biologischen" Trächtigkeitsdiagnose offensichtlich nicht völlig abwegig. Die Trächtigkeitsfeststellung aus dem Harn ist außerdem schon in der vorchristlichen hellenischen und ägyptischen Medizin praktiziert worden. Und im 16./17. Jahrhundert war die Uroskopie (Harnschau) eine bevorzugte Methode zur Schwangerschaftsdiagnose. Sie ist auch in einer Reihe von Bildern holländischer Maler des 17. Jahrhunderts dargestellt worden (FRÄNKEL, 1934, zit. n. COWIE, 1948).

2.1. Klinische Methoden

2.1.1. Äußere Untersuchung, Adspektion und Palpation

Die äußerliche Feststellung der Trächtigkeit ist dem geübten Pferdemann bei seinen Stuten mit einem gewissen Maß an Wahrscheinlichkeit

möglich. Das Verhalten und der Ausdruck der Stute verändern sich nämlich schon während der frühen Trächtigkeit, lange bevor die ersten sichtbaren Zeichen, wie erhöhter Leibesumfang, Absacken der Bauchdecke und Euterbildung, festzustellen sind.
Diese Art der Trächtigkeitsfeststellung kann jedoch nicht Bestandteil einer tierärztlich-klinischen Untersuchung wegen der hohen individuellen Subjektivität der Aussage sein. Die äußere Untersuchung der Stute durch Palpation in der Flanke ist, abgesehen von der Gefahr geschlagen zu werden, vor allem bei kitzligen und bei Maidenstuten wegen der sehr straff gespannten Bauchdecke ziemlich aussichtslos. Etwa ab dem 6. Trächtigkeitsmonat können nach dem morgentlichen Tränken mit kaltem Wasser stoßende Bewegungen des Fohlens in der Flanke wahrgenommen werden. Erhöht wird die Wahrnehmbarkeit dieser Bewegungen durch das Auflegen der Hand am Unterbauch vor dem Euter, was in der früheren Gestütspraxis als "das Spüren der Stuten" (BENESCH, 1924) bezeichnet wurde.
Auch die Auskultation der Herztöne des Fetus ist wegen der ausgeprägten Darmgeräusche der Stute und der Entfernung des schallerzeugenden Objektes von der Bauchwand für die Diagnose der Trächtigkeit kaum zu gebrauchen (BENESCH, 1924).

2.1.2. Vaginale Untersuchung

Die Graviditätsveränderungen an der Schleimhaut der Scheide und am Muttermund verlaufen nach einem typischen Muster, welches für den gynäkologischen Gesamtbefund von entscheidender Bedeutung sein kann. BENESCH (1924) benutzte zur Adspektion der Scheide ein modifiziertes POLANSKI-Spekulum und warnte ausdrücklich vor der manuellen vaginalen Untersuchung, wie sie noch von STOSS (zit. n. BENESCH, 1924) empfohlen worden war.
Der Befund "nichtträchtig" stützt sich nach den Ausführungen von BENESCH (1924) auf folgende Merkmale:

"Eine saftig glänzende Schleimhaut bietet keinen Widerstand gegen das Einführen des Spekulums. Die portio cervicis ist

nicht erigiert, es besteht eine mehr oder weniger ausgeprägte Erschlaffung der Muttermundlippen, ein das orificum cervicis verschließender Schleimpfropf fehlt".

Der Befund "trächtig" stützt sich ab dem 14. bis 17. Tag auf die folgenden spezifischen Merkmale:

"Beim Einführen des Spekulums ist ein deutlicher Widerstand durch trocken pappigen Schleim zu spüren, der auch die Scheidenwand verklebt. In der eigentümlich trockenen Schleimhautoberfläche ist die Zervix zapfenförmig erigiert. Ein trichterförmiges orificum ist nicht sichtbar, da es von einem weißen Schleimpfropf überdeckt wird".

Diese typischen Zeichen sind in den ersten fünf Monaten der Trächtigkeit ziemlich eindeutig. Vor einer unzweifelhaft negativen Aussage, ausschließlich anhand des vaginalen Befundes, hat allerdings BENESCH (1924) selbst schon gewarnt. Nach fünf Monaten wird das Bild weniger eindeutig. Steigende Östrogenspiegel und fallende Gestagenspiegel verändern das Vaginalbild mit einer Zunahme von Rötung und Glanz, die vor allem in den beiden letzten Monaten auffällig werden.
Auch GÜTZE (1940 a) hatte noch, bevor er um das Jahr 1947 die Möglichkeit der rektalen Frühträchtigkeitsdiagnose vor dem 42. Tag der Gravidität erkannte, die vaginale Diagnose nach BENESCH (1924) empfohlen.

2.1.3. Rektale Untersuchung von Uterus und Ovar

Die Wichtigkeit der rektalen Frühträchtigkeitsdiagnose sahen DIMOCK und FINCHER (1928) in zwei typischen Verhaltensmerkmalen bei gedeckten Stuten gegeben:

"Die einen sind gedeckt und haben aufgenommen und zeigen doch später Rosse, obwohl sie tragend sind,
die anderen sind gedeckt, haben nicht aufgenommen und tun sich später schwer, wieder in Rosse zu kommen".

Die Grundlagen der rektalen Trächtigkeitsfeststellung gehen zurück auf Untersuchungen von ALBRECHTSEN (1918), BENESCH (1924), GROMMELT (1922, zit. n. STEGEMANN, 1950). ALBRECHTSEN (1918) vermutete auf Grund anatomischer Beschreibungen von der Größe der Frucht schon, daß

> "...ein 21 Tage altes Pferdeei 3,5 cm lang, oval und gleichmäßig mit Flüssigkeit gefüllt ist",

und daß daher zu diesem Zeitpunkt bei dem dünnwandigen Uterus anhand einer Ausbuchtung schon eine Trächtigkeit festzustellen sein müßte. Eine sichere Diagnose konnte er aber erst ab der 6. Woche stellen.

BENESCH (1924) nahm

> "...als untere Grenze, bis zu der wir eine Trächtigkeitsdiagnose mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit stellen... sechs bis acht Wochen nach dem letzten Sprung"

an. Davor sei die Volumenzunahme so gering, daß eine Differenzierung per rectum nicht möglich schien. Er konnte allerdings mitunter schon nach vier bis fünf Wochen bestimmte Veränderungen in der Stärke der Uteruswand und im Spannungszustand der Baucheingeweide (?) im Zusammenhang mit der Frühträchtigkeit feststellen.

DIMOCK und FINCHER (1928) führten die rektale Untersuchung zwischen dem 30. und 60. Tag zwar schon bei einer Reihe von Stuten durch, aber sie hatten nur eine vage Vorstellung von den Veränderungen am trächtigen Uterus der Stute.

MILLER und DAY (1938) gaben bereits als optimale Zeit für die rektale Untersuchung die Zeit zwischen dem 90. und 120. Tag nach der Bedeckung an. Vor diesem Zeitpunkt "brauche man reichlich Erfahrung" und vor dem 45. Tag "sei die Diagnose sehr schwer".

GÖTZE (1940 a) konnte eine "klinische Wahrscheinlichkeitsdiagnose" mit der rektalen Untersuchung immerhin "bereits ab 42. Tag" stellen.

Die Untersuchungen von GÖTZE (1947) in den folgenden Jahren führten dann zu den grundlegenden Erkenntnissen über die Möglichkeit der Feststellung der Frühträchtigkeit bei der Stute, die er 1947 treffend mit "Sensibilisierungsstadium" des Uterus kennzeichnete. Dieses Sensibilisierungsstadium, welcher der "frühestens ab 18. Tag, häufiger ab 21.

bis 23. Tag ...bis etwa zum 40. bis 42. Tag" nachweisen konnte, ist geprägt von einer durch die manuelle Betastung provozierten "kleinen stabartig kontrahierten Gebärmutter, ...mit einer Ausbeulung am Sitz des Eies...".

BAIN (1967), der in Neuseeland über Jahre hinweg mit einem großen Stutenmaterial arbeitete, beschrieb diesen Zustand des frühtragenden Uterus sehr treffend:

> "...das vorher schlecht zu palpierende, schlaffe und teigige Uterushorn wird kontrahiert, erregt und belebt (contracted, vibrant and alive)".

Die erste eingehende Untersuchung der Vorgänge am Uterus während der Frühträchtigkeit stammt von NIEKERK (1965 a, c). Er beschrieb die Veränderungen von Dicke und Tonus der Uterushörner 14 bis 15 Tage nach der Ovulation und palpierbare Größe der Frucht im Uterushorn 17 bis 30 Tage nach Ovulation. Den Befund bei der rektalen Untersuchung am 17. Tag der Trächtigkeit beschreibt er folgendermaßen:

> "...kann der sich entwickelnde Embryo mit Eihäuten und Flüssigkeit als eine gut begrenzte, runde bis leicht ovale, ventral planoconvexe Ausbuchtung des Uterushornes gerade wenige Zentimeter links oder rechts von der Bifurkation palpiert werden. Auf der dorsalen Seite des Hornes ist keine Ausbuchtung vorhanden. Die Spannung der Uteruswand über dieser Ausbuchtung nimmt geringgradig ab"

und den Befund am 20./21. Tag nach der Ovulation

> "...wird die Frucht mehr oval, die Größe und Form wie ein Zwerghuhnei, mit einer geringgradigen Fluktuation auf der ventralen Seite. Der Grad der Fluktuation nimmt schrittweise zu, so daß die Frucht sich um den 28. bis 30. Tag wie ein dünnschaliges Hühnerei anfühlt.

Die Veränderungen von Tonus und Uteruswanddicke verlaufen nach etwa dem gleichen Muster (NIEKERK, 1965 c). Bis zum 3. Tag post ovulationem kann die Uteruswand noch zwischen Daumen und Zeigefinger leicht hin und her bewegt werden. Vom 4. Tag an ist eine schrittweise Zunahme mit deutlichem Anstieg um den 6. bis 7. Tag, wenn das befruchtete Ei

den Uterus erreicht hat, festzustellen. Dieser Zustand bleibt zwischen dem 7. und 12. Tag ziemlich konstant und steigt dann schnell bis zum 18. Tag an. Um diese Zeit lassen sich die Uterushörner wie runde schlauchähnliche Gebilde palpieren, die nicht vollständig zusammengedrückt werden können. Bis zum 23. Tag ist ein weiterer Anstieg von Tonus und Wanddicke festzustellen, danach bleiben beide Kriterien unverändert.

Die Technik der rektalen Untersuchung auf Trächtigkeit bei der Stute ist von verschiedenen Autoren ausführlich beschrieben worden (ALBRECHTSEN, 1918; BENESCH, 1924; DIMOCK u. FINCHER, 1928; MILLER u. DAY, 1938; GÖTZE, 1940 a; 1947; STEGEMANN, 1950; NIEKERK, 1965 a; BAIN, 1967; ROSSDALE u. RICKETTS, 1974; ARTHUR, 1975; LEPEL, 1976). Einige Autoren empfehlen dazu das ein- oder beidseitige Ausbinden der Stute zur Sicherung des Untersuchers gegen Tritte. Von den englischen Autoren werden die Stuten zur Untersuchung in der Regel seitlich an die rechtwincklig zur Boxentür stehende Wand plaziert, so daß ein seitlicher Schutz durch den Türpfosten gegeben ist. In größeren Gestüten empfiehlt sich die Benutzung einer bauchhohen Bretterwand, die zwischen Stute und Untersucher in die Boxentür gestellt wird. Routinierte Praktiker benutzen in der Regel überhaupt keine zusätzlichen Schutzmaßnahmen, wenn zwei geübte Helfer zur Hand sind. Der eine hält die aufgetrenste Stute mit einer leichten Biegung des Kopfes zur Seite des Untersuchers hin. Der andere steht seitlich am Pferd neben der Kruppe auf der dem Untersucher gegenüberliegenden Seite und hält den Schweif. Die zusätzliche Benutzung der Bremse empfiehlt sich nur bei unsicheren Stuten. Die Anwendung von Tranquilizern und Sedativa kann den rektalen Befund am Uterus verändert erscheinen lassen. Die Benutzung von Einmalhandschuhen und Gleitmittel ist eine selbstverständliche Forderung. Der Untersucher steht bei Benutzung des rechten Armes links neben der Kruppe der Stute, auf der er sich mit dem linken abgewinkelten Arm abstützt. Die Hand wird spitzkegelförmig mit dem Daumen zwischen den vier Fingern in das Rektum eingeführt. Die Ampulle wird sorgfältig und behutsam ausgeräumt, bis keine Kotballen mehr den Untersuchungsbefund stören. In der Regel ist die Einführung des Armes bis zum Ellenbogengelenk ausreichend, um sich vom linken Ovar über den

Uterus zum rechten Ovar (oder umgekehrt bei Benutzung der linken Hand) ein Bild über den Zustand der Fortpflanzungsorgane zu machen.

Zur Klassifizierung des Untersuchungsbefundes in den einzelnen Stadien der Trächtigkeit eignet sich am besten die Beschreibung von GÖTZE (1947):

- das Sensibilisierungsstadium — beginnt etwa um den 18. Tag und dauert etwa bis zum 42. Tag. Die Befunde sind bereits oben beschrieben.

- das Kleinsäckchenstadium — schließt sich an das Sensibilisierungsstadium bis zur 8./9. Woche an. Während dieser Zeit wächst die Fruchtblase von Hühnerei- bis Mannsfaustgröße an. Die Diagnose kann um den 60. Tag schwierig sein, wenn die Frucht aus den Uterushörnern mehr in das Corpus uteri übertritt. Bei älteren Stuten ist hier oft auch bei leerer Gebärmutter eine allerdings schlaffe Ausbeulung zu palpieren.

- das Großsäckchenstadium — reicht etwa bis zur 11. Woche. Die Sensibilisierung ist vollständig verschwunden. Die Uteruswand wird über der ein- bis zweifaustgroßen Frucht sehr dünnwandig.

- das Ballonstadium — beginnt mit dem 4. Trächtigkeitsmonat, eine fußballartige Gebärmutter bedeckt den gesamten vorderen Schambeinrand.

- das Senkungsstadium — ab 5. Monat versinkt der trächtige Uterus unter dem Darmkonvolut. Als typisches Merkmal ist eine strangförmige Zervix zu palpieren, die über den kranialen Schambeinrand in die Tiefe zieht.

- das Endstadium — ab 7. Monat sind regelmäßig Fruchtteile zu palpieren.

Besonders zu erwähnen ist in diesem Zusammenhang, daß zwischen dem 17. und 30. Tag der Gravidität eine ausgeprägte ovarielle Aktivität, mit der Bildung von reifen Follikeln bis zu 5 cm Durchmesser stattfindet (GÖTZE, 1940 b; NIEKERK, 1965 a). Eine follikuläre Aktivität ist demnach nicht nur ein Merkmal der Rosse, sondern auch der frühen Trächtigkeit, wobei das Ovar den Fortbestand der Gravidität durch die Ausbildung akzessorischer Corpora lutea (CL) sicherstellt. Eine Diagnose "Östrus" ist bei unsicherer Trächtigkeitsaussage in dieser kritischen Zeit daher nur im Zusammenhang mit der Inspektion der Zervix möglich (siehe 2.1.3.).
In zweifelhaften Fällen könnte auch der Plasmaprogesteronspiegel zur Bestimmung des zyklischen Geschehens herangezogen werden (HUGHES et al., 1975). Werte unter 1 ng/ml kennzeichnen die Östrusphase, über 1 ng/ml erhöhte Werte können aber nicht zwischen Trächtigkeit und der Phase der verlängerten Lebendauer des CL im Diöstrus unterscheiden (ALLEN et al., 1977). Die Wichtigkeit des ovariellen Befundes im Rahmen der Frühträchtigkeitsdiagnose wird aus diesen Faktoren deutlich.
Für die klinische Abgrenzung Trächtigkeit-Nichtträchtigkeit bedürfen auch die Kriterien für Rosse und Ovulation einer Betrachtung.

Als R o s s e wird die bereitwillige Annahme des Hengstes durch die Stute definiert, die sich in einem geänderten Verhalten der Stute manifestiert. Die äußeren Zeichen der Rosse sind individuell unterschiedlich und daher oft nicht leicht oder nur höchst subjektiv zu interpretieren. Für gewöhnlich wird die Stute von einem Probierhengst abprobiert. Die rossige Stute zeigt dabei typische Verhaltensmuster

wie Miktionsstellung, Strahlen und Blitzen, sowie seitliches Hochheben des Schweifes. GINTHER (1974) hält das Schweifheben der Stute beim Aufsteigen des Hengstes für den wichtigsten Bestandteil der Östrussymptome, denn Stuten "stehen" im Gegensatz zu anderen Tierarten oft auch außerhalb der Rosse. Blitzen und Strahlen für sich allein sind (nach GINTHER) keine zuverlässigen Östrussymptome; sie sind als Suböstrus zu bezeichnen. Suböstrusverhalten ist meist kurz vor oder nach dem Ende der Rosse zu beobachten, häufig in Verbindung mit stiller Ovulation, oder einer Ovulation nach dem Ende der Rosse, bei sehr kurzen Rossen (1 bis 2 Tage) und bei unterbrochenen Rossen. An die Möglichkeit eines verspäteten Eisprunges sollte immer gedacht werden, wenn nach dem Ende einer anovulatorischen Rosse noch Suböstrusverhalten vorhanden ist.

Bei der rektalen Untersuchung der Ovarien zu Beginn der Rosse sind für gewöhnlich wenigstens zwei Follikel von 1 bis 2 cm Durchmesser vorhanden, die sich mehr oder weniger deutlich von der glatten Oberfläche des Ovars abheben. Zum Zeitpunkt der Ovulation ist mindestens ein Follikel zu Tauben- bis Hühnereigröße herangewachsen und hat sich prall mit Flüssigkeit gefüllt. Kurz vor der Ovulation wird der reifende Follikel meist deutlich weicher, er fluktuiert. Nach HUGHES et al. (1975) ist eine fühlbare Erweichung des Follikels jedoch nicht immer ein sicheres Zeichen der bevorstehenden Ovulation. Sie beobachteten am reifenden Follikel häufig einen Wechsel zwischen Erweichung und Erhärtung, oft auch völliges Fehlen der Fluktuation bei der Ovulation.

Die O v u l a t i o n ist der kritische Faktor, auf dem die Befruchtung basiert. HUGHES et al. (1972, zit. n. HUGHES et al., 1975) haben nachgewiesen, daß die Ovulationsfrequenz in Bezug zu der Häufigkeit der Rossen - mit anderen Worten die Chance einer ovulatorischen Rosse - im Frühling und Sommer am höchsten ist. Sie fanden bei durchschnittlich 15 Zyklen pro Jahr mindestens 22 Ovulationen, außerdem eine Häufung von Mehrfachovulationen in den Monaten März, April, Mai. In einer späteren Arbeit beschrieben sie (HUGHES et al., 1975) die Ovulation noch weiterhin. Sie fanden hier 80 % der Ovulationen 48 bis 24 Stunden vor dem Ende der Rosse, 75 % davon zwischen 16^{00} und 8^{00} Uhr.

Bei 25 % der Stuten fanden sie Doppelovulationen mit einem mittleren Zwischenraum von einem Tag. ARTHUR (1969) schätzt die Häufigkeit von Doppelovulationen auf etwa 20 % aller Rossen, was er aufgrund einer post mortem Untersuchung an Stutenovarien 1975 bestätigen konnte. Die tatsächliche Zwillingsträchtigkeit dürfte aber nur zwischen 1,5 % (UPPENBORN, 1931, zit. n. MERKT, 1966) und 5 % liegen (MERKT, 1968).

Bei mehr als der Hälfte der untersuchten Stuten fanden HUGHES et al. (1975) anöstrische ("stille") Ovulationen. Als Indikator der follikulären Phase zur Abgrenzung der lutealen Phase des Diöstrus bestimmten sie die Plasmaprogesteronspiegel (<1 ng/ml). CL-Wachstum und -Rückbildung entsprachen dabei vollkommen dem einer normalen Ovulation. Anovulatorischer Östrus wurde seltener und dann zu Beginn und zum Ende des Winteranöstrus beobachtet. Diöstrusovulationen fanden sie bei allen Stuten (außer einer), davon mehr als 50 % zwischen dem 2. und 15. Tag der lutealen Phase (bei Plasmaprogesteronspiegeln >1 ng/ml bis zu 8 ng/ml) mit größter Häufigkeit während der Sommermonate.

Den Zeitpunkt der Ovulation untersuchten auch WITHERSPOON und TALBOT (1970) mit Hilfe von rektaler Untersuchung, Vaginoskopie und Endoskopie vor und nach der Ovulation. Von 25 untersuchten Ovulationen ereigneten sich 23 in der Zeit zwischen 23^{00} und 7^{00} Uhr im Abstand von 48 - 24 Stunden vor dem Ende des "Stehens". Der Ovulationszeitpunkt steht dabei in enger Beziehung zu dem Schwellungszustand der Zervix und ihrer Stellung zum Scheidenboden. Der Zervixbefund kann allerdings nach ihren Erkenntnissen nicht für sich allein als positiver Indikator des Ovulationszeitpunktes herangezogen werden.

ROSSDALE und RICKETTS (1974) vermuteten aufgrund klinischer Erfahrungen, daß die Befruchtungsfähigkeit des Eies bis zu 36 Stunden nach der Ovulation erhalten bleiben kann. Sie weisen allerdings gleichzeitig darauf hin, daß solche Fälle selten sind und möglicherweise auf einer zweiten nicht bemerkten Ovulation beruhen. Auch die Erfahrungen von KÖHLER und ALLMELING (persönliche Mitteilung, 1977) bei der Besamung von Traberstuten am Tage nach der Ovulation scheinen die ursprüngliche Meinung zu wiederlegen, daß das Ei seine Befruchtungsfähigkeit nach der Ovulation

nur wenige Stunden behält. GÖTZE (1947) hatte im übrigen schon auf die Möglichkeit der Befruchtung innerhalb von 12 Stunden nach der Ovulation hingewiesen.

Bei den domestizierten Säugern ist eine physiologische Veränderung wie die Menopause der Frau als Beendigung der Fortpflanzungsfähigkeit nicht vorhanden. Der regelmäßige Ablauf des Brunstzyklus findet praktisch ein Leben lang statt. Bei der Stute bleibt die Fortpflanzungsfähigkeit nicht selten weit über das 25. Lebensjahr hinaus erhalten. HUGHES et al. (1975) untersuchten den Brunstzyklus an nichttragenden Stuten über einen Zeitraum von zwei Jahren durch jeweils tägliche rektale Kontrolle, Plasmaprogesteronbestimmung und Abprobieren. Normalerweise gilt für die Stute ein dreiwöchiger Brunstzyklus. Tatsächlich variiert die Zykluslänge jedoch deutlich in Abhängigkeit von der Jahreszeit. Außerhalb der anöstrischen Zeit beträgt die Zyklusdauer allerdings doch ziemlich genau 21 Tage (HUGHES et al., 1975; 20,6 Tage). Die Länge des Diöstrus ist weniger abhängig von saisonalen Unterschieden (durchschnittlich 15,8 Tage während des Sommers), sondern in erster Linie abhängig von der unterschiedlichen Länge der Rosse. GINTHER (1974) untersuchte das Fortpflanzungsverhalten bei nichttragenden Ponystuten 12 Monate lang. Die mittlere Dauer der ovulatorischen Rosse war dabei im Sommer signifikant kürzer (5,4 Tage) als im Frühling (April 15 Tage, Mai 8,3 Tage, Juni 7,2 Tage). HUGHES et al. (1975) fanden die größte Häufigkeit der Rosse zwischen April und Juni. Im Juli und August beobachteten sie eine abnehmende Tendenz und eine zunehmende Zahl von stillen Ovulationen.

Die rektale Untersuchung (RU) der Stute ist zu allen Zeiten der Trächtigkeit gefahrlos durchzuführen. LEPEL (1976) weist ausdrücklich darauf hin, daß die RU der Stute auf Trächtigkeit kein größeres Risiko für Stute und Frucht darstellt als die RU des Kolikers (wo das Auslassen der RU als Kunstfehler angesehen werden kann). Er ist außerdem der Überzeugung, daß die rektal untersuchende Hand den trächtigen Uterus nicht stärker belastet und irritiert als etwa der Darm im Verlauf der Verdauungsvorgänge.

Wie unbegründet die Abneigung gegen die rektale Untersuchung im Grunde genommen ist, hatte WOHANKA (1961) schon bewiesen. Er konnte im Zusammenhang mit der industriellen Gewinnung des Frühschwangerschaftshormones der Stute selbst nach Aufbohren der Zervix mit dem Finger und nach Ablösen der Eihäute von der Uteruswand zwischen dem 4. und 6. Trächtigkeitsmonat keinen Abort auslösen. Selbst die Instillation von bis zu vier Litern Jodlösung in den Uterus konnte mitunter erst nach wiederholter Anwendung den Abort provozieren. Auch IRWIN (1975) hatte an einer großen Stutenzahl in zwei aufeinanderfolgenden Jahren nachgewiesen, daß die Frühträchtigkeitsuntersuchung zwischen dem 20. und 24. bzw. dem 30. und 34. Tag das Resorptionsrisiko nicht größer werden läßt, als nach der Untersuchung erst um den 42. Tag. KNIGHT (1977) konnte ebensowenig einen negativen Einfluß der rektalen Untersuchung auf die Frühträchtigkeit nachweisen. Ob die (rektal untersuchte) Stute ein lebendes Fohlen zur Welt bringt, hängt von einer Summe von Faktoren ab, von denen die rektale Untersuchung von untergeordneter Bedeutung ist.

Im Gegensatz zum Rind zeigt die Blastocyste des Pferdes kein zylindrisches Längenwachstum, sondern ist birnenförmig oval und stärker ausgedehnt durch die Allantoisflüssigkeit. Daher ist auch bei der Stute früher als bei der Kuh eine deutliche Aussackung des Uterus zu palpieren. Bei der rektalen Untersuchung auf Frühträchtigkeit ist diese runde oder birnenförmige Blastocyste im Uteruslumen noch frei beweglich. Bei der routinemäßigen Trächtigkeitsüberwachung darf daher der wechselseitige Sitz der Blastocyste im linken oder rechten Horn zu verschiedenen Untersuchungen nicht überraschen.

Ausreichende Auskunft über die Verhältnisse der Nidation und Plazentation gibt NIEKERK (1965 c). Er konnte nach der Fixierung der fetalen Membranen in Bouin'scher Lösung ein weißes Band auf der Oberfläche des Chorion am Übergang des Allantochorion zum Dottersack sichtbar machen. An dieser Stelle war das Chorion immer an das Endometrium angeheftet. Histologisch waren an dieser Stelle Proliferation und Invagination der Allantochorionmembran festzustellen. Dieses Band (der "Allantochoriongürtel") war schon am 25. Tag in einer Breite von 1 mm

sichtbar. Von diesem Band aus breitet sich die Zellproliferation mit der Formation von Zotten über das Chorion aus. Um den 40. Tag nach der Ovulation ist fast die gesamte Oberfläche des Chorion mit Zotten bedeckt. Zottenfrei sind nur die Gebiete der Fruchtblase, die in Richtung auf den Eileiter und auf die Zervix zeigen, sowie das Gebiet, über dem sich die Endometrial Cups formen. Damit hat NIEKERK (1965 c) nachgewiesen, daß die Nidation bei der Stute schon um den 25. Tag der Trächtigkeit beginnt, wenn der Wechsel von einer Dottersackplazenta zu einer Allantochorionplazenta stattfindet. Die vollständige Anheftung ist erst um den 60. bis 70. Tag erreicht, wenn die Bildung der "placenta diffusa epitheliochorialis" abgeschlossen ist (ROSSDALE u. RICKETTS, 1974).

KNIGHT (1977) verglich das Abfohlergebnis mit den Befunden der rektalen Untersuchung und fand nur eine Übereinstimmung von etwa 90 %. Zu ähnlichen Ergebnissen kam schon STEGEMANN (1950), der "...einen 10 %igen Schwund durch Frühabort auch ohne rektale Untersuchung für normal..." hielt. Auch GÖTZE (1947) hatte konstatiert, daß man mit der rektalen Frühträchtigkeitsdiagnose je nach Erfahrung 80 bis 90 % der befruchteten Stuten herausfinden könne. KEROV (1940, zit. n. COWIE, 1948) konnte ebenfalls nur etwa 90 % Übereinstimmung finden.

Bei der Frühträchtigkeitsdiagnose ist es wichtiger, daß der Untersucher imstande ist, eine bestehende Trächtigkeit auszuschließen als umgekehrt. Insofern ist BAIN (1967) durchaus zuzustimmen, wenn er sich gegen die Behauptung von NIEKERK (1965 a) wehrt, daß "die definitive Trächtigkeitsdiagnose mit ein wenig Erfahrung zwischen dem 17. und 20. Tag für jeden Praktiker möglich sein sollte". Wichtig ist die Feststellung der Nichtträchtigkeit vor dem 21. Tag, damit eine mögliche neue Rosse nicht übergangen wird. Die endgültige Aussage über eine bestehende Trächtigkeit ist erst nach Überwinden des Resorptionsrisikos möglich. LEPEL (1976) ist der Auffassung, daß dieser Zeitpunkt erst nach 90 Tagen erreicht ist. Andere Autoren (MERKT, 1966; NIEKERK, 1965 b) sehen das Resorptionsrisiko schon früher beendet (um den 60. Tag). Der Sinn der Trächtigkeitsfrühdiagnose liegt daher in der Sicherstellung des sexuellen Zustandes der Stute während der Decksaison

zwischen dem 19. und 100. Tag, damit bei Feststellung der Nichtträchtigkeit Maßnahmen ergriffen werden können, um die Stute wieder in Rosse zu bringen.

Die rechtsverbindliche Trächtigkeitsaussage des Tierarztes ist auch für bestimmte Bedingungen wie Verkauf, Versicherung und Vereinbarungen über die Bezahlung des Deckgeldes (no foal - no fee) wichtig. Gerade für die Bedingungen ist zu beachten, daß die positive Trächtigkeitsdiagnose auch durch die rektale Untersuchung nur für das Datum der Untersuchung mit absoluter Sicherheit bescheinigt werden kann.

2.1.4. Scheidensekretprobe (Mucintest)

Auf der Erkenntnis der zyklischen Veränderungen im histologischen Aufbau der Scheidenschleimhaut und ihrer Abstriche bei Meerschweinchen und Ratte vor mehr als 50 Jahren sind eine Reihe von diagnostischen und labortechnischen Methoden entwickelt worden (COWIE, 1948).

KUROSAWA (1931, zit. n. COWIE, 1948) hat die histologischen Veränderungen des Scheidensekretes der Stute untersucht und die Technik zur Diagnose der Trächtigkeit beschrieben. Ein Abstrich von der Scheidenschleimhaut bzw. Zervix wird auf einen Objektträger gebracht und mit Hämatoxilin-Eosin oder Giemsa gefärbt. Im Abstrich der trächtigen Stute sind zilienbesetzte Epithelzellen verschiedener Größe und dunkelfärbende Mucinkügelchen zu finden. Nach KUROSAWA ist der Test ab 7. Tag nach der Konzeption anwendbar, mit einer Genauigkeit 86 % bis zum 10. Tag, 90 % zwischen dem 11. und 15. Tag und fast 100 % danach.

Die Brauchbarkeit des Testes ist von einer Reihe russischer Autoren (COWIE, 1948) mit Erfolg geprüft worden (durchschn. 85 bis 100 % Genauigkeit). Auch MILLER und DAY (1939) haben den Test geprüft und dabei eine diagnostische Sicherheit von 78 % zwischen 20. und 40. Tag, und von 97 % zwischen 90. und 100. Tag gefunden.

2.2. Biologische Methoden

Die biologischen Methoden der Trächtigkeitsdiagnose bei der Stute basieren auf dem Nachweis von hormonellen Veränderungen im Serum und im Harn während der Trächtigkeit. Durch Injektion von Serum oder Harn gravider Stuten in Versuchstiere treten in deren Fortpflanzungssystem charakteristische Veränderungen auf. Mit den verschiedenen biologischen Tests werden im Serum der graviden Stute ein extrahypophysäres Gonadotropin und im Harn Östrogene nachgewiesen. Im Gegensatz zur Frau, bei der das extrahypophysäre Schwangerschaftsgonadotropin (human chorionic gonadotrophin - HCG) sowohl im Harn als auch im Serum in vergleichbaren Mengen erscheint (WIDE u. WIDE, 1963), ist das Hormon bei der Stute nur im Serum nachzuweisen (pregnant mare serum gonadotrophin - PMSG). Die im Harn ausgeschiedenen Mengen sind zu gering, um einen gonadotropen Effekt am Versuchstier hervorzurufen.
COWIE (1948) brachte eine ausführliche Übersicht über die Möglichkeiten der Trächtigkeitsdiagnose bei unterschiedlichen Spezies (Frau, Haus- und Labortiere) durch den biologischen Nachweis spezifischer Hormone, wozu sich als Versuchstiere besonders die kleinen Nager (Maus, Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen) und Amphibien (Kröten, Frösche), außerdem mehr oder weniger gut auch Vögel, Fische und sogar Pflanzen eignen.

2.2.1. ASCHHEIM-ZONDEK-KOST- bzw. ASCHHEIM-ZONDEK-HART-COLE-Test

Das Prinzip dieser Tests beruht auf der überstürzten Follikelreifung und Uterushypertrophie juveniler Mäuse und Ratten nach der Injektion gonadotropinhaltigen Harns oder Serums. ASCHHEIM (1926, zit. n. COWIE, 1948) und ZONDEK (1926, zit. n. COWIE, 1948) hatten diesen Effekt der überstürzten sexuellen Reife zuerst durch Implantation von menschlichem oder tierischem Hypophysenvorderlappengewebe an juvenilen Mäusen nachgewiesen. ASCHHEIM und ZONDEK (1928) haben dann mit dem Mäusetest einen gonadotropen Wirkstoff im Harn, im Blut und in der Decidua der schwangeren Frau nachgewiesen. Wegen der identischen Reaktion an den Reproduktionsorganen der Versuchstiere nach HVL-Gewebsimplantation oder

Harn- bzw. Seruminjektion waren sie noch von dem hypophysären Ursprung des gefundenen Wirkstoffes überzeugt. Dementsprechend benannten sie die aufeinanderfolgenden Reaktionsphasen am Geschlechtstrakt des Versuchstieres als

Hypophysenvorderlappenreaktion I (HVR I)
- Follikelreifung, Östrogenausscheidung, uteriner und vaginaler Östrus

Hypophysenvorderlappenreaktion II (HVR II)
- Überstürzte Ovarreifung, Hyperämie, Blutpunkte

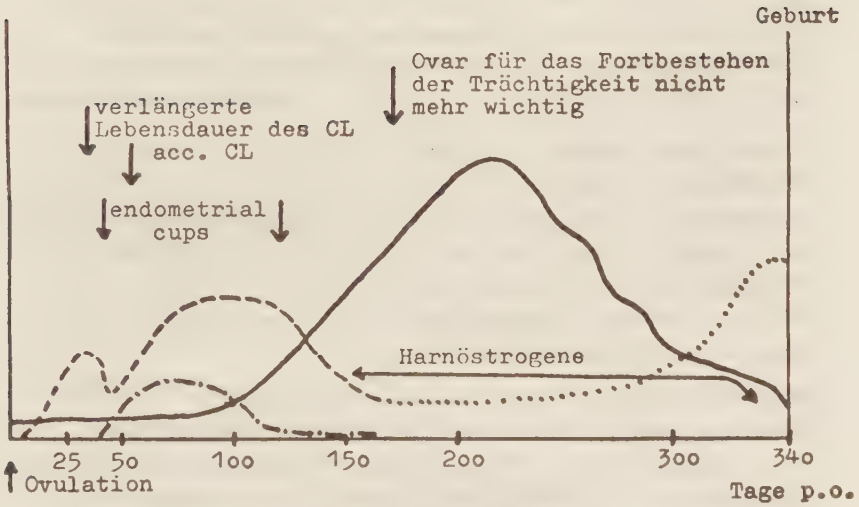
Hypophysenvorderlappenreaktion III (HVR III)
- Luteinisierung, Gelbkörperbildung

Inzwischen ist der extrahypophysäre Ursprung des Graviditätsgonadotropins geklärt. Bevor die Methodik des Hormonnachweises aus dem Blut mit dem Mäusetest näher beschrieben wird, sollen die neueren Erkenntnisse über das nachzuweisende Hormon kurz aufgezeigt werden.
Das PMSG der Stute entsteht in den sogenannten "endometrial cups", kraterförmigen Einstülpungen in der Uteruswand (COLE u. GOSS, 1943, zit. n. ALLEN, 1970). Die Entwicklung dieser Strukturen beginnt am 36. Tag der Trächtigkeit gegenüber einer ringförmigen Verdickung des Chorion, dem sog. "Allantochoriongürtel" (EWART, 1897, zit. n. ALLEN, 1970; NIEKERK, 1965 c). Sie entstehen, bevor das Allantochorion an das Endometrium angeheftet wird.
Zwischen dem 40. und 130. Tag der Trächtigkeit sind große Mengen von PMSG im Serum der Stute vorhanden. PMSG kann frühestens zwischen dem 35. und 40. Tag nachgewiesen werden, die höchsten Mengen werden zwischen dem 50. und 70. Tag gemessen, im Anschluß daran fallen die Konzentrationen kontinuierlich ab. In seltenen Fällen kann das Hormon noch bis zum 180. Tag der Trächtigkeit nachgewiesen werden (siehe Abbildung 1).

Der Serumhormonspiegel von PMSG ist individuell sehr unterschiedlich und von verschiedenen Faktoren abhängig. Die Konzentrationen verhalten sich offenbar umgekehrt proportional zur Größe der Stute. Bei Ponystuten fanden DAY und ROWLANDS (1947, zit. n. ALLEN, 1970) Höchstwerte bis zu 362 I.E. PMSG/ml um den 55. Tag (durchschnittl. Spiegel zwischen dem 40. und 100. Tag bei Welsh um 133 I.E./ml, bei Shetlands um 258 I.E./ml).

Abbildung 1

ENDOKRINOLOGIE DER TRÄCHTIGKEIT



nach ROSSDALE und RICKETTS (1974)

Bei normal großen Stuten finden sich in der Regel Konzentrationen in der Größenordnung von 100 I.E. PMSG/ml (CONSTANTINESCO, 1962; CATCHPOLE, 1964, beide zit. n. SCHMIDT, 1968; ALLEN, 1970). Die absolut höchsten Konzentrationen werden bei erstgebärenden Ponystuten gefunden (ALLEN, 1970).
Die Bildung von PMSG ist außerdem abhängig vom Genotyp des Fetus. Wenn eine Stute von einem Eselhengst gedeckt ist und einen Maultierfetus trägt, bildet sie sehr viel weniger PMSG, als wenn sie einen Pferdefetus tragen würde (BIELANSKIE et al., 1965; GLEEG et al., 1962, beide zit. n. ALLEN, 1970).
Andererseits bildet die Eselstute, die von einem Pferdehengst gedeckt ist, erheblich mehr PMSG, als wenn sie einen Eselfetus tragen würde. Einleuchtend erscheint die etwa verdoppelte PMSG-Produktion bei Zwillingsträchtigkeit, da auch eine doppelte Anlage der "endometrial cups" vorhanden ist (ROWLANDS, 1949, zit. n. ROSSDALE u. RICKETTS, 1974).

In aufeinanderfolgenden Trächtigkeiten nehmen die Konzentrationen von PMSG ab (DAY u. ROWLANDS, 1947, zit. n. ALLEN, 1970). Diese Ergebnisse unterstützen auch die Vermutung von ALLEN (1970), daß mit der Bildung der "endometrial cups" im maternalen Endometrium durch das Überwandern von fetalen Zellen aus dem trophoblastischen Gürtel (ALLEN u. MOOR, 1972) eine immunologische Reaktion des maternalen Gewebes auf fetale Antigene stattfindet.

PMSG besitzt starke follikelstimulierende Eigenschaften bei allen Tierarten, außer der Stute selbst. Allerdings funktioniert der follikelstimulierende Effekt des PMSG enthaltenen Stutenserums nicht bei hypophysektomierten juvenilen Ratten (VINDEVOGEL, 1972). Bei der Stute scheint es die follikuläre Aktivität nicht zu beeinflussen (ALLEN, 1970; ROSSDALE u. RICKETTS, 1974). Der Grund für diesen refraktären Zustand des Stutenovars ist nicht bekannt. Überhaupt bleibt die Bedeutung von PMSG ziemlich unklar. Unter bestimmten Umständen scheint es zumindest einen antagonistischen Effekt auf exogene Prostaglandine zu haben und so die Luteolyse des Corpus luteum zwischen dem 40. und 90. Tag zu verhindern (ALLEN u. ROSSDALE, 1973). DAWSON (1970) glaubt, daß PMSG den Stimulus zur Entwicklung der Sekundärfollikel (luteini-

sierender Effekt) bewirkt. Eine präzise Funktion vermag auch er nicht anzugeben. Auffallend ist auf jeden Fall die Kongruenz der PMSG- und Progesteronausscheidungsraten zwischen dem 40. und 130. Tag der Trächtigkeit.

COLE und HART (1930) beschrieben als erste den Einfluß von Stutenserum aus fortschreitenden Stadien der Gravidität auf die sexuelle Reifung juveniler Ratten. Das im Serum tragender Stuten vorhandene Gonadotropin wird seitdem "pregnant mare serum gonadotrophin" = PMSG genannt. HART und COLE (1932) und KÜST (1932) haben dann gleichzeitig und unabhängig voneinander die Möglichkeit des biologischen Trächtigkeitsnachweises bei der Stute unter Verwendung von weiblichen Mäusen oder Ratten als Testtiere mitgeteilt.

Für den ASCHHEIM-ZONDEK-KÜST-Test (bzw. -HART-COLE-Test) werden vier juvenile weiße Mäuse (6 - 8 g) oder Ratten benötigt. Die Mäuse werden subkutan in 12-stündigem Abstand 5 mal mit je 0,4 ml Serum geimpft, bei Ratten ist die Impfdosis zu verdoppeln. Nach 48-stündiger Ruhe werden die Tiere getötet und die Ovarien auf Follikel, Blutpunkte und Corpora lutea untersucht. Der Test ist positiv, wenn wenigstens bei zwei Tieren Ovarveränderungen feststellbar sind, wobei je ein Blutpunkt oder Gelbkörper ausreicht. Scheidenabstriche können die Diagnose sichern helfen (siehe ALLEN-DOISY-Test).

Zusammenfassende Daten zum Test:

Testflüssigkeit	:	Blutserum, 25 ml
Versuchsdauer	:	4 bis 5 Tage
Versuchstiere	:	4 infantile Mäuse (Ratten)
Reichweite	:	42. bis 120. Graviditätstag
Sicherheit	:	ca. 98 %

(nach KÜST u. SCHAETZ, 1977)

Dieser Test ist in der Folgezeit mehrfach mit dem Ziel der Verkürzung der Versuchsdauer modifiziert worden.

Eine interessante Modifikation teilten SANTAMARINA und JOVEN (1960 b) mit. Sie benötigen nur drei juvenile Mäuse (22 Tage alt) und 10 ml Blut.

Nach zwei Stunden Aufbewahrung bei Zimmertemperatur wird es für vier bis sechs Stunden im Kühlschrank (+ 4°C) gehalten, danach zentrifugiert. Die Versuchstiere werden nur einmal mit 0,5 ml Serum geimpft und bereits nach 24 Stunden zur Diagnose getötet. Die Genauigkeit des Testes soll bei 100 % liegen. Von besonderem Interesse sind die Ergebnisse von Begleiterscheinungen der gleichen Forscher (1960 a), wonach das Gonadotropin bei Kühlschranktemperaturen seine biologische Wirksamkeit praktisch unbegrenzt behielt, während es bei höheren Temperaturen bereits nach kurzer Zeit, oft innerhalb von 24 Stunden reaktionsunfähig wird.

JEFFCOTT et al. (1969) injizierten einmalig 0,5 ml Serum subkutan in drei 17 bis 21 Tage alte Mäuse. Die Tötung und makroskopische Untersuchung erfolgte nach 48 Stunden. Die Sensibilität des Testes wird von den Verfassern mit 1 I.E. PMSG/ml, die Treffsicherheit (748 Proben) mit 91,45 % angegeben.
LUTTMANN und LEPEL (1971) und ZETTL (1974) injizierten einer 8 bis 10 g schweren infantilen Maus 2 mal 0,5 ml Serum im Abstand von drei Stunden und einer zweiten Maus im gleichen Abstand an einem Tag 3 mal und am folgenden Tag 2 mal 0,4 ml Serum. Jeweils am zweiten Tag nach der letzten Injektion wurde das erste Tier getötet. Beurteilt wurden Rötung und Schwellung des Uterus. Zeigte die erste Maus bereits ein positives Ergebnis, konnte die zweite Maus zur Diagnose vorzeitig getötet werden.

Von Interesse im Zusammenhang mit diesem Test sind die Untersuchungen von VINDEVOGEL (1972). Er konnte den unterschiedlichen Einfluß des Hormons auf Uterus und Ovar quantifizieren. Er injizierte je 3 ml Serum an drei aufeinanderfolgenden Tagen in juvenile (19 bis 23 Tage alt, 35 bis 55 g schwer) Ratten. Nach 72 Stunden wurden Uterusgewichtsentwicklung und Follikelbildung untersucht. Der Uterus reagierte schon bei 3 I.E. PMSG/ml mit Gewichtszunahme. Der entsprechende Effekt am Ovar trat dagegen erst bei einem Gehalt von 24 I.E. PMSG/ml ein.

2.2.2. Froschtest nach GALLI-MAININI

Der gonadotrope Effekt des Serums trächtiger Stuten bewirkt im Test nach GALLI-MAININI die spontane Ejakulation von Spermien bei geschlechts-

reifen männlichen Fröschen. Der Test wurde ursprünglich zum Nachweis von HCG der schwangeren Frau durch Spermienausschüttung bei männlichen Kröten (Bufo arenarum Hensel) entwickelt (GALLI-MAININI, 1947, zit. n. COWIE, 1948). Schon vorher hatten SHAPIRO und ZWARENSTEIN (1934, zit. n. COWIE, 1948) bei der weiblichen südafrikanischen Krallenkröte (Xenopus laevis) durch Injektion gonadotropinhaltigen Schwangerenharns die spontane Eiablage auslösen können. Der Test war jedoch wenig spezifisch, da auch Steroide wie Testosteron und Progesteron Oviposition auslösen. Außerdem dauert er erheblich länger (5 bis 18 Stunden) als der männliche Froschtest (1,5 bis 3 Stunden).

Der GALLI-MAININI-Test wurde später von TABARELLINETO (1949, zit. n. CONSTANTIN, 1971) und von BRAZEL (1950) als weiteres biologisches Nachweisverfahren für die Gravidität von Stuten vorgeschlagen und beschrieben. GROTE (1951), OSWALD (1951) und SCHMIDT-HOENSDORF (1951) prüften die Verwendbarkeit von einheimischen Anuren. Nach OSWALD sind auch bestimmte einheimische Frosch- und Krötenarten für den GALLI-MAININI-Test zu gebrauchen (Bufo marinus, Bufo crucifer, Bufo comunis viridis und calamitata sowie Rana temporaria-Grasfrosch und Rana esculenta-Wasserfrosch). Nach SCHMIDT-HOENSDORF sind Erdkröten (Bufo vulgaris) und Wechselkröten (Bufo viridis) als Versuchstiere für die Trächtigkeitsdiagnose bei der Stute weniger geeignet.

Die Durchführung des Testes ist einfach. Geschlechtsreife männliche Kröten oder Frösche werden nach einer Vortestung mit standardisierter PMSG-Lösung oder sicher positivem Serum für den Test bereitgehalten. Unmittelbar vor der Injektion des zu prüfenden Serums wird etwas Harn mit einer Pipette aus der Kloake entnommen und unter dem Mikroskop auf eventuelle Ejakulation untersucht. Ist der Harn frei von Spermien, werden etwa 5 ml des zu untersuchenden Serums in den dorsalen Lymphsack injiziert. Die Einstichstelle liegt im oberen Drittel des Oberschenkels auf der Rückenseite. Die Injektion darf nicht in den zuerst angestochenen Lymphsack, sondern muß durch das angrenzende Septum hindurch in den dorsalen Lymphsack erfolgen, da sonst die Injektionsflüssigkeit über die noch länger klaffende Einstichstelle wieder abfließen würde. Bei positivem Testergebnis sind schon wenige Stunden nach der Injektion im Harn des Frosches Spermien unter dem Mikroskop nachzuweisen.

Die Sensibilität des Testes ist offenbar etwas geringer als die des Mäusetestes (GROTE, 1931) und die des immunologischen Testes (DESCHANEL et al., 1969).
Der Froschtest ist zuletzt von CONSTANTIN (1971) ausführlich beschrieben worden.

Zusammenfassende Daten zum Test:

Testflüssigkeit:		Blutserum, 10 - 20 ml
Versuchsdauer	:	wenige Minuten bis einige Stunden
Versuchstiere	:	Grüner Teichfrosch (Rana esculenta), Erdkröte (Bufo vulgaris), beide Geschlechter, männl. bevorzugt. Mehrfach verwendbar
Reichweite	:	40. bis 135. Tag
Sicherheit	:	98 bis 100 %

(nach KÜST u. SCHAETZ, 1977)

2.2.3. Kaninchentest nach FRIEDMAN-SCHNEIDER

Die Fähigkeit des weiblichen Kaninchens, zyklusunabhängig und spontan zu ovulieren, bildet die physiologische Grundlage zu diesem biologischen Test. Die spontane Ovulation erfolgt unmittelbar durch den Kopulationsreiz oder durch Injektion von gonadotropem Material aus hypophysärem (BELLERBY, 1929, zit. n. COWIE, 1948) oder extrahypophysärem (HIROSE, 1920; MURATA u. ADACHI, 1927, beide zit. n. COWIE, 1948) Zubereitungen. Die Bedeutung dieses Mechanismus für die Schwangerschaftsdiagnose entdeckte FRIEDMAN (1929, zit. n. COWIE, 1948), der Urin von Schwangeren zunächst mehrfach intraperitoneal, später dann einmal intravenös in Kaninchen injizierte und damit spontane Ovulationen nach etwa 10 Stunden auslöste. SCHNEIDER (1930, zit. n. COWIE, 1948) benutzte juvenile Kaninchen für den Test.
Als positives Ergebnis gilt nur das Auffinden von hämorrhagischen Follikeln und frischen Gelbkörpern. Follikelbildung allein ist negativ zu beurteilen. Das Ergebnis kann unter Laparotomie abgelesen werden, die Kaninchen können mehrfach zum Test benutzt werden. Um Fehlinterpretationen durch vorangegangene Ovulationen zu vermeiden, muß das Test-

Kaninchen drei bis vier Wochen vorher isoliert werden, da sich bei gemeinsam aufgestallten Weibchen spontane Ovulationen ereignen können.

Der FRIEDMAN-SCHNEIDER-Test wurde zuletzt von HENDRIKSEN (1967) zur Trächtigkeitsdiagnose bei 396 Stuten verwendet. Die größte Sicherheit bietet der Test zwischen dem 60. und 80. Tag, die positive Reaktion scheint dabei zutreffender zu sein als die negative. Allerdings fand schon CATCHPOLE (1934, zit. n. COWIE, 1948) den Test weniger brauchbar als den Mäusetest, da er gegen PMSG weniger sensibel sei. Auch COLE und HART (1942, zit. n. COWIE, 1948) fanden, daß das Kaninchen zufriedenstellende Testergebnisse nur zwischen dem 49. und 85. Tag der Trächtigkeit bringt.
Der FRIEDMAN-SCHNEIDER-Test hat im Rahmen der biologischen Trächtigkeitsnachweisverfahren bei der Stute keine Bedeutung erlangt.

2.2.4. ALLEN-DOISY-Test

Der Nachweis und die Identifizierung von östrogenen Hormonen wurden möglich durch die Entdekcung von ALLEN und DOISY (1923, zit. n. COWIE, 1948), daß an ovariektomierte Ratten oder Mäuse applizierte Östrogene die typischen Veränderungen der Brunst in der Schleimhaut der Scheide hervorrufen. Kleine Nager zeigen physiologisch einen vierphasigen Scheidenzyklus, der aus dem Scheidenabstrich unter dem Mikroskop leicht erkannt werden kann. In der Phase der Brunst werden von der Scheidenschleimhaut platte, verhornte, kernlose Zellen ("Schollen") abgestoßen. Für den Östrogennachweis im ALLEN-DOISY-Test eignet sich vorzugsweise der Harn trächtiger Stuten, obwohl auch im PLasma ausreichende Konzentrationen vorhanden sind.
Die Plasmaöstrogene der Stute während und nach der Trächtigkeit sind von NETT et al. (1974) bestimmt worden (Östron, Equilin, Equilenin-Fraktion I; Östradiol-Fraktion II). Die erste Fraktion wurde dabei in Konzentrationen von unter 20 pg/ml vom Decken bis zum 80. Tag der Trächtigkeit nachgewiesen. Bis zum 210. Tag steigen die Werte auf 288 $\pm$ 151 pg/ml, danach fallen sie zur Geburt hin ab. Östradiol wird vor dem 90. Tag in Werten unter 15 pg/ml nachgewiesen. Bis zum 240. Tag

steigen die Werte auf 71 ± 18 pg/ml an, danach fallen sie bis zum 300. Tag. Von diesem Zeitpunkt an bleiben sie relativ unverändert bis zur Geburt.
Niedrigste Werte werden am ersten Tag nach der Geburt gefunden, wobei mindestens Östron und Östradiol 17β nachzuweisen sind. Die Östrogenkonzentrationen (gemessen als Östronäquivalent) liegen außerhalb der Rosse bei 5 bis 15 pg/ml. Ein deutlicher Anstieg ist nur während der Fohlenrosse (25 bis 50 pg/ml) zu messen, sonst ist vor dem 80. Tag der Trächtigkeit kein signifikanter Anstieg festzusstellen.
Im Harn der trächtigen Stute erscheinen Equilin und Equilenin ab dem vierten Monat der Trächtigkeit (BHAVNANI et al., 1969, zit. n. NETT et al., 1974) und steigen zum Ende der Gravidität hin an. Dabei gleichen die Konzentrationen denen von Östron und Östradiol 17β (GLEN, 1956; SAVARD, 1961, beide zit. n. NETT et al., 1974).
Die hohe Östrogenproduktion in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit stammt überwiegend aus der "fetoplazentalen Einheit". Diese Schlußfolgerung zogen BARNES et al. (1975) aus ihren Untersuchungen über Östrogenbestimmungen aus dem Uterinvenenplasma von Ponystuten und dem Nabelkreislauf ihrer Feten.
Zur Durchführung des Tests wird juvenilen Ratten oder Mäusen 5 mal in halbtägigen Abständen je 0,2 bis 0,3 ml filtrierter und leicht angesäuerter Harn subkutan injiziert. 24 Stunden nach der letzten Injektion werden in 12-stündigen Abständen mit der Platinöse Scheidenabstriche gewonnen, auf einen Objektträger ausgestrichen, mit Methylenblau gefärbt und unter dem Mikroskop beurteilt. Der Test ist nur dann einwandfrei positiv, wenn nur noch kernlose Zellen zu sehen sind. Fehlresultate sind möglich, wenn die Versuchstiere bereits geschlechtsreif oder die Stuten in der Brunst waren.

Zusammenfassende Daten zum Test:

Testflüssigkeit	:	Harn, 50 ml
Versuchsdauer	:	4 Tage
Versuchstiere	:	infantile weiße Mäuse, evtl. mehrfach verwendbar
Reichweite	:	sicher ab 120. Tag der Gravidität
Sicherheit	:	ca. 98 %

(nach KÜST u. SCHAETZ, 1977)

2.3. Chemische Methoden

2.3.1. Östrogenfluoreszenztest nach CUBONI

WIELAND et al. (1929, zit. n. COWIE, 1948) beobachteten, daß halbkristalline Östrogenkonzentrate aus dem Harn von Schwangeren mit bestimmten Lösungsmitteln und konzentrierter Schwefelsäure typische Farbreaktionen mit grünlicher Fluoreszenz bilden (SALKOWSKI- bzw. LIEBERMANN-BURKHARDT-Reaktion). KOBER (1931, zit. n. COWIE, 1948) modifizierte diese "Schwefelsäurereaktion" und entwickelte einen mehr quantitativen Test, der zum Nachweis von Östrogenen aus dem Harn von Schwangeren und von trächtigen Stuten geeignet ist.
CUBONI (1934) beschrieb zuerst die Östrogen-Schwefelsäurereaktion zum Trächtigkeitsnachweis bei der Stute.

CUBONI-Reaktion (I. Originalmethode)
Harn 15 ml und konzentrierte Salzsäure 3 ml 10 Minuten in kochendes Wasser, abkühlen, in Scheidetrichter füllen, Benzol 18 ml zusetzen, 50 mal schütteln. Unten abgesetzten Harn ablaufen lassen und verwerfen. Zum verbleibenden Östrogen-Benzolextrakt konzentrierte Schwefelsäure 10 ml, 20 bis 30 mal schütteln. Obenstehendes Benzolgemisch verwerfen, unten befindliches Östrogen-Schwefelsäuregemisch im Reagenzglas 5 Minuten in 80° Wasserbad. Nach einigen Stunden ablesen.
Positiv: erbsengrüne Fluoreszenz
Negativ: malagarote bis braune Färbung

Zusammenfassende Daten zum Test:

Testflüssigkeit	:	Harn, 15 ml
Versuchsdauer	:	$^1/_2$ bis 1 Stunde
Apparatur	:	Scheidetrichter
Reichweite	:	ab 120. bis 130. Tag bis gegen Ende der Gravidität
Sicherheit	:	98 %

Fehlergebnisse sind möglich bei Harnentnahme während der Brunst.

Zu dieser Original-CUBONI-Reaktion sind in der Folgezeit einige Modifikationen mitgeteilt worden. Sie haben das Ziel, die Sensibilität des Tests soweit zu erhöhen, daß bereits vor dem 120. bis 130. Graviditätstag Östrogene und damit eine bestehende Gravidität nachweisbar werden.

Im folgenden Abschnitt werden einige dieser Modifikationen beschrieben.

2.3.2. Modifikation der CUBONI-Reaktion

Modifikation nach CUBONI (CUBONI-Reaktion II)
In dieser Modifikation wird eine größere Harnmenge eingedampft und die Benzolfraktion mit Natriumkarbonat- und Natronlaugelösungen gewaschen. Durch die damit verbundene Erhöhung des Östrogengehaltes kann der Test bereits ab dem 90. Trächtigkeitstag zeichnen. Bei einer Graviditätsdauer von 90 bis 100 Tagen werden 800 ml Harn, von 100 bis 120 Tagen 400 ml Harn, benötigt. Zur Klärung einer zweifelhaften CUBONI- Reaktion I werden 100 ml Harn durch Verdampfen eingeengt.

Zusammenfassende Daten zum Test:

Testflüssigkeit: Harn, 100, 400 bzw. 800 ml
Versuchsdauer : ab 90 Minuten
Reichweite : ab 90 bzw. 100 Tagen

(CUBONI, 1958; KOST u. SCHAETZ, 1977)

Modifikation nach BOGUTH
15 ml Harn werden durch Kochen mit 5 ml konzentrierter Salzsäure hydrolysiert, nach Abkühlung mit 10 ml Aqua dest. verdünnt, mit thiophenfreiem Benzol ausgeschüttelt, mit der Wasserstrahlpumpe filtriert, der Benzolextrakt mit 5 ml Schwefelsäure ausgeschüttelt.
In der absinkenden Schwefelsäurephase entsteht die gelbgrüne Fluoreszenz der Östron-Schwefelsäureverbindung.
Die Beurteilung der Reaktion erfolgt gegen Fluoreszenzstandards in einem Gerät, das nur einen Teil des Lichtspektrums einläßt.

(BOGUTH, 1951)

PRIMUS (1952) hat die Modifikation der CUBONI-Reaktion I nach BOGUTH überprüft. Er konnte ab 110. Tag der Trächtigkeit 70 % und ab 115. Tag fast 100 % mit dem klinischen Befund übereinstimmende Ergebnisse nachweisen. Nach seinen Untersuchungen ist die Modifikation nach BOGUTH um 2000 Ratteneinheiten (1 Ratteneinheit = 1 I.E.; MONTAGUT, 1970) sensibler als die CUBONI-Reaktion I und noch 500 Ratteneinheiten sensibler als der

ALLEN-DOISY-Test, die beide erst ab 120. Graviditätstag zeichnen. Ein weiterer wesentlicher Vorteil der Modifikation nach BOGUTH liegt darin, daß sich die Untersuchungszeit von mehr als einer Stunde auf weniger als eine Viertelstunde verkürzt.

Modifikation nach ROMMEL

ROMMEL (1963) hat eine quantitativ-chemische Östrogennachweismethode im Harn bei der Stute, die teilweise auf der CUBONI-Reaktion aufbaut, mitgeteilt. Die Spezifität und Empfindlichkeit der Nachweisreaktion ermöglicht die Trächtigkeitsbestimmung bei der Stute aus nur 2,5 ml Harn bereits ab 50. beziehungsweise 70. Tag nach der Konzeption. Die Methode ist recht kompliziert, erfordert ein entsprechend eingerichtetes Laboratorium und hat deshalb in der Praxis keine wesentliche Bedeutung erlangt.

HUHOLD und LANGE (1967) haben nach dieser Methode gearbeitet. Sie fanden bei positiven Proben eine 100 %ige Übereinstimmung mit dem klinischen Befund ab 50. und 80. Tag nach der Konzeption, bei negativen Proben eine Übereinstimmung von 92,7 % ab 50. Tag und von 97,6 % ab 80. Tag nach der Konzeption. Die Verfasser weisen besonders auf den Ausschluß der Rosse hin, da die während des Östrus im Harn ausgeschiedenen Östrogenmengen etwa denen um den 70. Graviditätstag gleichen.

ROMMEL und ZSCHINTSCH (1977) haben diese Modifikation auch bei Ponystuten geprüft und eine Treffsicherheit von 95 % gefunden. Durch quantitative Östrogenbestimmungen bei der graviden Ponystute konnten sie nachweisen, daß der Harnöstrogengehalt vom 80. bis 225. Tag der Trächtigkeit kontinuierlich ansteigt und danach bis zur Geburt wieder abfällt. Der Harnöstrogentest bei der Ponystute beginnt ab dritten Trächtigkeitsmonat positiv zu werden.

Modifikation nach COX-GALINA

COX und GALINA (1970) haben durch eine Modifikation der CUBONI-Reaktion I einen geringeren Zeitaufwand für die Durchführung des Tests erreichen können. 15 ml Harn werden 10 Minuten mit 3 ml konzentrierter Salzsäure 10 Minuten auf 100°C erhitzt und nach Abkühlung auf Raumtemperatur mit 18 ml Benzol ausgeschüttelt. Nach einigen Minuten wird

ein Wattestopfen durch die obere Emulsion gedrückt. Die Benzolfraktion wird in ein zweites Röhrchen verbracht und mit 10 ml konzentrierter Schwefelsäure bei schräggehaltenem Röhrchen unterschichtet, geschüttelt und für 5 Minuten auf 80°C erhitzt. Das Ablesen erfolgt bei Tageslicht oder unter einer UV-Lampe. Diese Modifikation ist allerdings erst vom 150. Tag nach der Konzeption absolut zuverlässig.
COX wies 1971 noch einmal darauf hin, daß die Anwesenheit von hohen Östrogenspiegeln im Harn zwar spezifisch für eine Trächtigkeit ist, aber nicht beweisend. Harnöstrogene können nämlich auch bei Ovarzysten oder Nymphomanie nachgewiesen werden. Falsche negative Ergebnisse sind trotz bestehender Trächtigkeit bei Stuten mit weniger als 150 Tagen Trächtigkeit mit zunehmender Tendenz zu erwarten, je kürzer die Trächtigkeit ist.

2.4. Immunologische Methoden

Der immunologische Schwangerschaftstest durch den Nachweis des Choriongonadotropins der Frau (HCG) findet in der Humanmedizin eine breite Anwendung. Hämagglutinationshemmungstest, Latexagglutinationstest, Geldiffusionstest, Immunoelektrophorese, Komplementbindungsreaktion und Radioimmunoassay werden in der Arbeit von SCHMIDT (1968) beschrieben und auf ihre Anwendbarkeit verglichen. In der Veterinärmedizin ist dagegen der immunologische Nachweis des extrahypophysären Trächtigkeitsgonadotropins der Stute (PMSG) auf einige wenige Techniken beschränkt, von denen die Hämagglutinationshemmungsreaktion in der Praxis letztlich als einzige verwendbar scheint. Die Ursache für diese Diskrepanz scheint vor allem in der fehlenden Nachweisbarkeit des Hormons im Harn der Stute zu liegen, wenn auch der immunologische Nachweis von Harn-PMSG mit der Immunoelektrophorese (McCARTHY u. PENNINGTON, 1966) möglich scheint.

Wegen des hohen Molekulargewichtes (um 70.000) ist die Filtrationsrate biologisch aktiver Hormoneinheiten gering (SCHMIDT, 1968). Außerdem wird PMSG vermutlich durch Metabolisierung inaktiviert (COLE et al., 1967, zit. n. SCHMIDT, 1968). Weiterhin ist noch die im "ovarian-

ascorbic-acid-depletion test" von PARLOW (1962, zit. n. SCHMIDT, 1968) beobachtete lange Halbwertzeit von PMSG in Ratten gegenüber anderen Gonadotropinen auffällig. Biologische und immunologische Eigenschaften von PMSG sind nicht an gleiche chemische Strukturen des Hormons gebunden (SCHMIDT, 1968). Biologische Tests beruhen auf der Wirkung eines spezifischen gonadotropen Prinzips an den Genitalien der Testtiere. Beim immunologischen Test dagegen reagieren bestimmte antigene Faktoren. Mit der jeweiligen Prüfmethode kann nur das biologische oder immunologische Radikal gemessen werden. Daher kann grundsätzlich auch eine immunologische eine biologische Reaktion nicht ersetzen. Die Frage, ob beim Stutenserumgonadotropin ebenfalls wie beim HCG zwischen biologischen und immunologischen Aktivitäten zu unterscheiden ist, kann aus der vorhandenen Literatur nicht beantwortet werden. SCHMIDT (1968) vermutet jedoch, daß für PMSG im Prinzip dasselbe gilt wie für HCG. Besondere Beachtung verdient in diesem Zusammenhang eine Veröffentlichung von McCARTHY und PENNINGTON (1966). Sie erzielten im HHT sowohl mit Harn als auch mit Serum positiv richtige Ergebnisse von drei Stuten (Harn-PMSG-Werte zwischen 7 und 29 I.E./ml). Diese Befunde lassen vermuten, daß PMSG in biologisch inaktiver aber immunologisch aktiver Form im Harn ausgeschieden wird.

Aus der Vielzahl immunologischer Schwangerschaftsreaktionen haben sich die Verfahren weitgehend durchgesetzt, die eine Antigen-Antikörperreaktion mit Hilfe inerter Partikel nachweisen. Die antigenen Eigenschaften der extrahypophysären Gonadotropine zeigen sich bei wiederholten Injektionen der Hormone in Versuchstiere. Die Maus reagiert dann refraktär gegen die gonadotrope Wirkung des Hormons (ZONDEK, 1931). Dieser refraktäre Zustand des Organismus ist eine immunologische Reaktion mit der Bildung von Antikörpern gegen ein heterologes Antigen. Die extrahypophysären Gonadotropine der Frau und der Stute sind chemisch Glykoproteine. Ihre Antigenität beruht auf ihren chemischen Eigenschaften, ihrem heterologen Ursprung und der Größe des Moleküls.

2.4.1. Hämagglutinationshemmungstest

Der Hämagglutinationshemmungstest (HHT) beruht auf der Sichtbarmachung einer Antigen-Antikörperreaktion durch ein spezifisch reagierendes

Indikatorsystem. Die Grundlage für den HHT bildet die Entdeckung von BOYDEN (1951, zit. n. SCHMIDT, 1968), wonach Proteine an die Oberfläche von Erythrozyten adsorbiert werden können. Nach dem Zufügen eines spezifischen Antiserums agglutinieren die roten Blutkörperchen dann.

Der immunologische Nachweis von PMSG wurde zuerst von WIDE und WIDE (1963) beschrieben. Das Prinzip der Reaktion kann kurz folgendermaßen zusammengefaßt werden:
Stabilisierte Schaferythrozyten werden mit PMSG sensibilisiert und fungieren so als Antigenträger. Kaninchenantiserum reagiert mit den sensibilisierten Schaferythrozyten durch Agglutination. Wenn Serum einer trächtigen Stute, das PMSG enthält, diesem System zugegeben wird, reagiert das Kaninchenantiserum mit dem PMSG und wird dadurch neutralisiert. Infolge der Neutralisation können die Antikörper die sensibilisierten Schaferythrozyten nicht mehr agglutinieren. Eine Hämagglutination bleibt aus.
Die Sichtbarmachung der Reaktion gelingt in Reagenzgläsern mit hemisphärischem Boden. Nach der Beobachtung von SALK (1944, zit. n. SCHMIDT, 1968) formen rote Blutkörperchen in geringen Konzentrationen typische Muster, die Agglutination der Erythrozyten manifestiert sich als Sediment am Boden des Glases. Wird die Agglutination gehemmt (im positiven Ausfall des Tests), so bildet sich ein charakteristischer Ring mit einer zentralen Aussparung am Boden des Reagenzglases.

Der immunologische Nachweis des Trächtigkeitsgonadotropins der Stute ist in den letzten Jahren durch eine Reihe von Autoren geprüft worden (DESCHANEL et al., 1962; SOLOMON u. HOFF, 1969; LAGNEAU, 1970; BERTHELON u. RAMPIN, 1970; HENDRIKSEN u. JØRGENSEN, 1971; MITCHELL, 1971; LUTTMANN u. LEPEL, 1971; McCAUGHY u. O'BRIEN, 1973; ZETTL, 1974). Geprüft wurde von der Mehrzahl der Autoren ein fertiges Testbesteck ("MIPTEST®" bzw. "JUMATEST®", entsprechend bei den französischen Autoren). Die Ergebnisse entsprechen durchgehend denen der im Vergleich geprüften biologischen Methoden (Froschtest: DESCHANEL et al., 1969; Mäusetest: LUTTMANN u. LEPEL, 1971; McCAUGHY u. O'BRIEN, 1973; ZETTL, 1974; Kaninchentest: BERTHELON u. RAMPIN, 1970; LAGNEAU, 1970). Auch im Vergleich zur rektalen Untersuchung wird über eine hohe Übereinstimmung berichtet. Die Ergebnisse können am einfachsten tabellarisch wiedergegeben werden:

Tabelle 1

Vergleich der Übereinstimmung zwischen HHT und biologischen Tests und rektaler Untersuchung

AUTOREN	Anzahl d. Stuten	Zeitpunkt der Trächtigkeit	Übereinstimmung %	im Vergleich zu
WIDE u. WIDE (1963)	50	44. - 116. Tag	100,0	Mäusetest
JEFFCOTT et al. (1969)	396	50. - 90. Tag	90,8	Mäusetest
LAGNEAU (1970)	324	38. - 125. Tag	96,0	Kaninchen- bzw. Frosch-test
LUTTMANN u. LEPEL (1971)	200	-	98,5	Mäusetest
McCAUGHY u. O'BRIEN (1973)	112	35. - 130. Tag	98,2 (94,5	Mäusetest Geldiffusion)
ZETTL (1974)	300	50. - 100. Tag 50. - 120. Tag	94,0 91,9	Mäusetest
HENDRIKSEN u. JØRGENSEN (1971)	396	42. - 110. Tag	91,0	rektale U.
SOLOMON u. HOFF (1969)	131	bis 50. Tag 50. - 120. Tag 121. - 160. Tag	72,6 94,6 63,6	rektale U. rektale U. rektale U.
LUTTMANN u. LEPEL (1971)	59	38. - 196. Tag	84,7	rektale U.

Die Nachweisbarkeit des PMSG steht mit der Funktion der "endometrial cups" (EC) im direkten Zusammenhang. Da die EC sich um den 37. Tag der Trächtigkeit (ALLEN u. MOOR, 1972) im Endometrium bilden, ist von diesem Zeitpunkt an mit dem Vorhandensein des Hormons im Blut zu rechnen. Wegen des hohen Konzentrationsgefälles zwischen Endometrium und Plasma (10 zu 1 nach MONTAGUT, 1972) und der erst langsam ansteigenden Produktion ist vor dem 40. Tag der Trächtigkeit selten ein positiver Hormonnachweis möglich.
Die unterschiedliche Nachweisbarkeitsdauer bei verschiedenen Stuten ist aus der starken individuellen Variation der PMSG-Blutspiegel erklärlich (MITCHELL, 1971). Der rasche Abbau des Hormons in der Blutprobe schon bei Zimmertemperatur (SANTAMARINA u. JOVEN, 1960), ist bei den geringen Konzentrationen zu Beginn und zum Ende der Hormonbildung (37. bis etwa 150. Tag) außerdem ein bedeutsamer Faktor für die Nachweisbarkeit. Späte positive Ergebnisse nach dem 150. Tag (170. Tag MITCHELL, 1971; 196. Tag LUTTMANN u. LEPEL, 1971) sind sehr selten und ungewöhnlich.

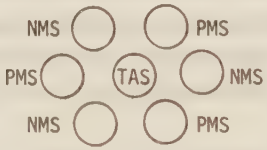
Der Sensibilitätsvergleich zu Beginn und zum Ende der PMSG-Ausscheidungszeit mit den biologischen Methoden (Mäusetest, Kaninchentest, Froschtest) begünstigt überwiegend die biologischen. McCAUGHY und O'BRIEN (1973) und LUTTMANN und LEPEL (1971) schätzen die Sensibilität des Mäusetests höher ein als die des immunologischen. ZETTL (1974) fand bei elf Stuten zwischen dem 121. und 166. Tag noch einen positiven Mäusetest, gleichzeitig jedoch einen negativen immunologischen. BERTHELON und RAMPIN (1970) maßen positive Reaktionen beim Kaninchentest schon bei 2 bis 10 I.E./ml, nicht jedoch beim immunologischen. Dem Froschtest scheint der immunologische allerdings überlegen zu sein (DESCHANEL et al., 1969).
Aus diesen Überlegungen ergibt sich zwangsläufig die Frage nach der Zeitspanne, in welcher der HHT mit optimalen Ergebnissen angewendet werden kann. Nicht alle Autoren, die den HHT geprüft haben, geben eine (optimale) Zeitspanne für die Anwendbarkeit an. Von den verfügbaren Angaben unterscheiden sich die von ZETTL (50. bis 100. Tag) und von SOLOMON und HOFF (41. bis 130. Tag) am weitesten. Aber auch die übrigen Untersucher sind mit den Angaben für die Zeit der Anwendbarkeit großzügiger als ZETTL (LAGNEAU 43. bis 150. Tag; DESCHANEL 45. bis 110. Tag;

MITCHELL 43. bis 127. Tag). LUTTMANN und LEPEL geben als frühestes Datum "den 42. oder besser den 45. Tag" an, eine Begrenzung nach oben erwähnen sie nicht. Der Hersteller empfiehlt in seinem letzten Beipackzettel (1977) als optimale Zeit die Spanne zwischen dem 45. und 100. Tag. Damit ist der unteren Grenze sicherlich am besten Rechnung getragen. Die obere liegt, wenn man die Angaben der einzelnen Untersucher extrapolieren darf, mehr um den 115. Tag der Trächtigkeit.

2.4.2. Geldiffusionstest

Die von RICHARDS (1967, zit. n. WORMSTRAND, 1969) entwickelte Methode zur Trächtigkeitsdiagnose aus dem Serum der Stute basiert auf der Präzipitation von PMSG mit Putenserumanti-PMSG auf Ouchterlonyplatten. WORMSTRAND (1969) hat die Methode geprüft und ihre Treffsicherheit bestätigt. Zwischen dem 40. und 50. Tag fand er 97,1 %, zwischen dem 51. und 100. Tag 100 % Übereinstimmung mit dem klinischen Befund. Der im Vergleich geprüfte Mäusetest zeigte etwa gleiche Ergebnisse (40. bis 50. Tag 94,1 %, 51. bis 100. Tag 100 %). McCAUGHY und O'BRIEN (1973) konnten diese hohe Treffsicherheit nicht bestätigen. Sie prüften die Methode nach RICHARDS im Vergleich zum HHT (MIPTEST®) und zum Mäusetest. Die Sensibilität des Geldiffusionstests war nach ihren Untersuchungen deutlich geringer (10 I.E./ml) als die des MIPTEST® (5 I.E./ml) und des Mäusetest (1 I.E./ml). Entsprechend schlechter waren auch die Ergebnisse mit einem relativ hohen Anteil von falschen Positiven (12 aus 56 Proben) und von falschen Negativen (8 aus 56 Proben). Die unterschiedlichen Ergebnisse der beiden Autoren sind allerdings kaum zu vergleichen. Der Untersuchungszeitraum ist bei McCAUGHY weiter über den 100. Tag der Trächtigkeit hinaus gewählt (35. bis 130. Tag) als bei WORMSTRAND (37. bis 108. Tag), so daß das schwache Ergebnis vermutlich aus dem zu weit gesetzten Untersuchungszeitraum und weniger aus der geringeren Sensibilität resultiert.
Nach WORMSTRAND (1969) ist die Methodik der Testdurchführung einfach:

In Agarplatten (8,5 cm^2) werden sieben Löcher (Durchm. 4 mm) nach folgendem Muster ausgestanzt:



PMS = das zu untersuchende Serum
NMS = Serum mit Standardgehalt von 400 I.E. PMSG/ml
TAS = Putenserumanti-PMSG

Damit scharfe Präzipitationslinien entstehen, sollen die Stanzlöcher nicht weiter als 3 mm voneinander entfernt sein.
Die äußeren Löcher werden abwechselnd mit einem Tropfen NMS (normal mare serum = Serum einer nichttragenden Stute mit einem Standardgehalt von 400 I.E. PMSG/ml) und einem Tropfen des zu untersuchenden Serums gefüllt, das zentrale Loch mit einem Tropfen Putenantiserum. Nach 24 bis 48 Stunden Lagerung bei Zimmertemperatur können die Ergebnisse abgelesen werden.
NMS gibt eine deutliche Präzipitationslinie mit dem Putenantiserum. Testserum mit einem Gehalt über 2,5 I.E. PMSG/ml bewirkt eine Abweichung der Präzipitationslinien, die mit steigenden Gehalten an PMSG deutlicher wird.

2.4.3. Immunoelektrophorese

McCARTHY und PENNINGTON (1966) haben die Möglichkeiten der Immunoelektrophorese zur Trächtigkeitsfeststellung bei der Stute untersucht. In einem vorläufigen Bericht haben sie von drei frühtragenden Stuten positive Nachweise aus dem Serum (44. bis 53. Tag) führen können. Interessant sind die hohen Konzentrationen von PMSG, die sie gleichzeitig aus dem Harn nachweisen konnten (7 I.E. PMSG/ml; 21 I.E. PMSG/ml; 29 I.E. PMSG/ml).

LECLERQ und DERIVAUX (1964, zit. n. DESCHANEL et al., 1969) hatten die Immunoelektrophorese schon zur Trächtigkeitsdiagnose der Stute vorgeschlagen.
Seither sind in der Literatur keine weiteren Veröffentlichungen zu dieser Methode erschienen.

2.5. Physikalische Methoden

Ultraschall-Methode

Nachdem FRASER und ROBERTSON (1967;1968) erstmalig auf die Möglichkeit der Trächtigkeitsfeststellung bei Schaf und Schwein mittels eines Ultraschallgerätes hingewiesen hatten, wiederholten FRASER et al. (1971; 1973) die Untersuchungen auch an Stuten. Das Prinzip beruht auf der Hör- oder Meßbarmachung von Wellen, die bei Reflexion von sich bewegenden Medien eine Frequenzänderung erfahren. Mit diesem Doppler-Effekt können die fetalen Herzaktionen und der fetale Kreislauf, auch fetale Bewegungen, nachgewiesen werden. Der Schallgeber ist an einer Sonde befestigt und wird im Rektum angesetzt.
Die Methode kann in Einzelfällen bereits ab 42. Tag der Gravidität positive Ergebnisse bringen, ab dritten Trächtigkeitsmonat ist die Diagnose sicher. Der Vorteil dieser Methode ist darin zu sehen, daß neben der sofortigen Feststellung einer Gravidität auch eine Aussage möglich ist, ob der Fetus lebt oder abgestorben ist.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Tiermaterial-Auswahl der Stuten

Im Rahmen einer dreimonatigen Assistententätigkeit in einer Tierklinik in Schleswig-Holstein wurden bei der routinemäßigen Trächtigkeitsüberwachung mit rektaler und vaginaler Kontrolle Blutproben zur serologischen Untersuchung entnommen. Zur Untersuchung kamen insgesamt 93 Vollblut-, Traber-, Warmblut-, Haflinger- und Ponystuten mit einer Trächtig-

keitsdauer von 36 bis 157 Tagen während der klinischen bzw. ambulanten Betreuung. Dabei wurde überwiegend solchen Stuten Blut entnommen, deren angenommene Trächtigkeitsdauer zwischen 50 und 100 Tagen nach der letzten Bedeckung lag.

3.2. Prüfmethoden

3.2.1. MIPTEST®

Zur serologischen Bestimmung des Trächtigkeitsgonadotropins der Stute wurde der MIPTEST® benutzt, der freundlicherweise von der Firma BYK GULDEN zur Verfügung gestellt worden war (Chargen-Nr. 7 A 7229).

Seit einigen Jahren wird das Produkt als immunologischer Test zur Feststellung der Trächtigkeit bei Stuten auch in Deutschland angeboten. Hersteller des Testbesteckes ist die Firma CARTER WALLACE INC. in Cranbury, USA. Der immunologische Trächtigkeitstest soll Serumgonadotropin innerhalb von zwei Stunden im Serum nachweisen.
Das Testbesteck wird in einem doppelten Pappkarton geliefert und enthält folgende Reagenzien:

Ein Fläschchen mit 0,5 ml Hemmlösung = rotes Etikett
inaktiviert unspezifische Hämagglutinine, die normalerweise im Serum vorhanden sind

Ein Fläschchen mit 0,5 ml Pufferlösung = braunes Etikett

Ein Fläschchen mit 1,5 ml Antiserum = blaues Etikett
enthält Antiserum vom Kaninchen

Ein Fläschchen mit 1,5 ml Kontrollösung = grünes Etikett
enthält gepufferte Kochsalzlösung

Ein Fläschchen mit 0,5 ml Zellsuspension = schwarzes Etikett
enthält mit Pferdeserumgonadotropin beladene Schaferythrozyten

Zwölf Einmalteströhrchen aus Glas

Ein Proberöhrchengestell aus durchsichtigem Kunststoff

Fünf kalibrierte Serumtropfpipetten zum einmaligen Gebrauch

Gebrauchsanweisung

Neben Verfallsdatum und Chargennummer ist auf der Packung noch ein deutlicher Hinweis auf die Lagertemperatur angebracht. Der MIPTEST® muß bei +2 bis +8°C aufbewahrt werden. Der Inhalt des Testbesteckes reicht aus für fünf Diagnosen einschließlich einer Prüfung des Testbesteckes auf Funktionsfähigkeit.

Prüfung der Reagenzien

Zur Überprüfung auf eventuelle Transportschäden soll jede Originalpackung vor der Verwendung folgendermaßen untersucht werden:
Nach Erwärmung der Reagenzien auf Zimmertemperatur werden zwei Teströhrchen mit Kontrollösung beschickt (Probe und Kontrolle). In die "Kontrolle" wird die gleiche Menge Kontrollösung ein weiteres Mal zugegeben und die "Probe" mit der gleichen Menge Antiserum gemischt. Zu beiden Reagenzgläsern wird je 1 Tropfen Zellsuspension zugegeben und geschüttelt. Das Ergebnis wird nach zwei Stunden abgelesen.
Wenn die Reagenzien in Ordnung sind, erscheint in der "Kontrolle" ein Erythrozytensediment mit dem Aussehen eines pfannkuchenartigen Ringes. In der "Probe" sind die Erythrozyten agglutiniert, sie überziehen den Röhrchenboden mit einer dünnen mattenartigen Schicht. Bei zwei von den mir zur Verfügung stehenden zehn Testbestecken war die Erythrozytensuspension beschädigt. Durch falsche Lagerung (über Kopf) während des Transportes hatten sich die Erythrozyten unter dem Deckel des Glasfläschchens abgeschieden und waren angetrocknet. Sie konnten nicht wieder ohne Flockenbildung in Suspension gebracht werden. Bei Anlieferung des Testbesteckes durch den Hersteller ist deshalb zu kontrollieren, daß sich die Suspension am Boden des Glases von Flüssigkeit bedeckt abgesetzt hat.

Durchführung des MIPTEST®

Die zu untersuchende Blutprobe soll bei Zimmertemperatur gerinnen. Danach wird das Blutgerinnsel von der Wand des Röhrchens mit einem sauberen Glasstab abgelöst. Um ein klares Serum zu erhalten, bleibt das Röhrchen stehen oder wird zentrifugiert.

Es werden zwei Teströhrchen angesetzt, eine "Kontrolle" und eine "Probe". Beide Röhrchen werden mit Stutenserum mit der mitgelieferten Serum-Tropfpipette beschickt. Darauf wird je ein Tropfen Hemmlösung zugegeben. Dabei ist darauf zu achten, daß der Tropfen direkt auf das Serum fällt und nicht nicht an der Wand nach unten läuft. Nach Umschütteln müssen die Röhrchen etwa eine Minute stehen bleiben. Danach erhalten beide Röhrchen je einen Tropfen Pufferlösung und werden wieder gut durchgemischt.

Die "Kontrolle" wird nun mit Kontrollösung und die "Probe" mit Antiserum beschickt, danach geschüttelt.

Zum Schluß werden zur "Probe" und "Kontrolle" je ein Tropfen der Zellsuspension zugegeben und die Röhrchen nach Umschütteln zwei Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Beurteilung der Reaktion:

Sind in "Probe" und "Kontrolle" die Erythrozyten nicht agglutiniert, so ist die Stute als trächtig anzusehen. Findet man am Boden der "Probe" ein agglutiniertes Erythrozytensediment, so ist die Stute entweder als nicht trächtig zu betrachten oder hat noch kein Gonadotropin im Blut (z.B. vor dem 35. oder nach dem 150. Trächtigkeitstag).

Bei der Durchführung des Testes beziehungsweise bei der Prüfung der Reagenzien sind folgende Reaktionsbilder anzutreffen:

Knopfbildung	= ++++	Hämagglutinationshemmung		tragend
Dichter Ring	= +++	"	"	tragend
Normaler Ring	= ++	"	"	tragend
Breiter Ring	= +	"	"	tragend
Unterbrochener Ring	= ? fragliche	"	"	fragl. tragend
Keine Ringbildung	= - keine	"	"	nicht tragend

Produktversprechen:
MIPTEST® wird als immunologischer Frühträchtigkeitstest bei Stuten auf der Basis der Hämagglutinationshemmungsreaktion angeboten.
Der optimale Zeitpunkt der Untersuchung liegt zwischen dem 45. und 100. Tag.
Der MIPTEST® ist bei Lagerung im Kühlschrank zwei Jahre lang haltbar. Er darf nicht eingefroren werden.
Zur Durchführung des Testes dürfen nur saubere Geräte benutzt, und es sollen nur die mitgelieferten Pipetten und Röhrchen verwendet werden.
Das Stutenserum kann frisch verbracuht werden oder, falls keine Zeit für das Ansetzen des Testes vorhanden ist, auch für einen späteren Versuch ohne Verlust der immunologischen Eigenschaften eingefroren werden.
Die Reagenzien sind nur in der angegebenen Reihenfolge einzufüllen. Die Pipetten dürfen nicht verwechselt oder mit anderen Reagenzien zusammengebracht werden. Reagenzien aus verschiedenen Testbestecken dürfen nicht ausgetauscht werden (Angaben aus dem Beipackzettel).

3.2.2. Sampler - OXFORD LABORATORIES

Zur Testdurchführung in der abgewandelten Methode wurden statt der mitgelieferten Glaspipetten Sampler der Firma OXFORD LABORATORIES benutzt mit 100 Mikroliter für die Entnahme von Stutenserum, Kontrollserum und Antiserum und mit 20 Mikroliter für die Entnahme von Hemmlösung, Pufferlösung und Zellsuspension, außerdem ein Wechselständer derselben Firma für Sampler und Sampleraufsätze, die damit schnell und sauber ausgewechselt werden konnten.

3.2.3. Hepanosticon® - Reagenzglasständer ORGANON

Für die Durchführung des Testes mit den Samplern wurde überwiegend ein Reagenzglasständer aus dem Testbesteck Hepanosticon® der Firma ORGANON benutzt. Im Gegensatz zu dem vom Hersteller des MIPTEST® mitgelieferten Plastikreagenzglasständer hat dieser Ständer unter den Reagenzglasein-

sätzen einen schräg gesetzten Spiegel, der die Beobachtung des Ablaufes der Hämagglutinationshemmungsreaktion von der Seite ermöglicht. Da der Test vor Ende der Reaktion sehr empfindlich gegen Erschütterungen ist, die sich bei der Betrachtung von oben durch Berühren kaum vermeiden lassen, ist die Anwendung dieses Ständers von Vorteil. Die zu dem Hepanosticon®-Testbesteck gehörigen Reagenzgläser sind aus bruchsicherem Plastik und deutlich kürzer als die Original-MIPTEST®-Reagenzgläser. Der Durchmesser beider Reagenzgläser ist etwa gleich, ebenso wie die Bodenwölbung.

3.2.4. Serumgewinnung

Die zu untersuchenden Blutproben wurden aus der Vena jugularis mit sterilen Einmalkanülen in sterile Glasröhrchen beziehungsweise Einmalspritzen entnommen. Mit aufrecht gestellten Entnahmegeräten wurde die Gerinnung bei Zimmertemperatur beziehungsweise Außentemperatur abgewartet. Das Gerinnsel wurde mit einem sauberen Glasstäbchen von der Röhrchenwand abgelöst und die Probe in den Kühlschrank verbracht. Nach etwa 12 bis 24 Stunden wurde das gekühlte überstehende Serum mit Kanüle und Spritze abgezogen und in ein sauberes Röhrchen zur Untersuchung und zur weiteren Lagerung verbracht.

3.3. Vorversuch (Originalmethode)

Im Vorversuch mit der Originalmethode, wie sie unter 3.2.1. beschrieben ist, wurden die Seren von 38 Stuten (Nr. 1 bis 38) mit Trächtigkeiten zwischen dem 40. und 120. Tag untersucht. Bei zwei Stuten (Nr. 9 und 17) ist keine rektale Untersuchung durchgeführt worden, die Proben sind nicht in die Auswertung einbezogen worden. 29 Stuten waren in der rektalen Untersuchung tragend, sechs nichttragend und eine Stute war fraglich (Nr. 10).
Im Vorversuch sollte die Anwendbarkeit des Testes unter möglichst "normalen Bedingungen" geprüft werden. Deshalb ist auch das untersuchte Stutenmaterial (Nr. 1 bis 38) relativ heterogen, das heißt es wurden vorwiegend einzelne Stuten von unterschiedlichen Besitzern untersucht.

3.4. Hauptversuch

Im Hauptversuch wurde der Test mit Sampler 100 Mikroliter und Sampler 20 Mikroliter durchgeführt.
In den Hauptversuch gelangten die Seren von 55 Stuten, davon waren 52 Proben auswertbar. Zu der Probe Nr. 57 fehlte das Deckdatum, zur Probe Nr. 91 der rektale Untersuchungsbefund, die Probe Nr. 71 war ungenügend defibriniert. Bei der rektalen Untersuchung waren 45 Stuten tragend und 7 Stuten nichttragend.
Die Abänderung der Originalmethode durch Verwendung von Samplern anstelle der zum Testbesteck gehörenden Tropfpipetten erschien aus zwei Gründen vorteilhaft. Durch Verwendung von Samplern anstelle der Tropfpipetten wird der Arbeitsaufwand erheblich verkürzt, es kann sauberer und genauer dosiert werden. Durch Verwendung von kleineren Mengen von Prüfreagenzien wird die Ergiebigkeit des Testbesteckes erheblich verbessert.
Im Vorversuch hatte sich herausgestellt, daß die Ablesbarkeit des Testes nach zwei Stunden nicht immer möglich war. Nach vier Stunden war die Reaktion dagegen immer deutlich ablesbar. Daher wurde der Test im Hauptversuch nach Aufbereitung des Serums und nach Aufwärmen der Reagenzien auf Zimmertemperatur in der Regel am Abend angesetzt und am folgenden Morgen abgelesen.
Die Reagenzgläser wurden zum wiederholten Gebrauch mit einer Flaschenbürste und Detergentien gereinigt und mit destilliertem Wasser sorgfältig nachgespült.

4. ERGEBNISSE

Von 93 Stuten mit einer angenommenen Trächtigkeitsdauer zwischen 36 und 157 Tagen wurden während der Decksaison 1977 serologische Trächtigkeitsuntersuchungen mit dem MIPTEST® durchgeführt. Auswertbare Ergebnisse konnten an 88 Stuten erzielt werden. Bei den übrigen fünf Stuten fehlte der rektale Untersuchungsbefund (Nr. 9, 17, 91), das Deckdatum (Nr. 57) beziehungsweise war das Serum ungenügend defibriniert (Nr. 71).

Die Untersuchungsergebnisse sind in der Tabelle 2 aufgelistet.
Das positive Ergebnis des MIPTEST®, die Hämagglutinationshemmung, ist entsprechend der Intensität der Reaktion, das heißt der Ringbildung, in drei Grade unterteilt:

\+ = breiter Ring
++ = normaler Ring
+++ = dichter Ring

Ein unterbrochener Ring, mit dem Fragezeichen gekennzeichnet, bedeutet eine fragliche Reaktion. Die Hämagglutination, das heißt die Sedimentation der roten Blutkörperchen als negatives Ergebnis des MIPTEST®, wurde mit dem Negativzeichen gekennzeichnet.

Die Ergebnisse der rektalen Untersuchung sind als "tragend" oder "nichttragend" klassifiziert. Außergewöhnliche Uterusbefunde sind besonders ausgewiesen.
Sonstige Feststellungen sind als Bemerkungen erfaßt.

Tabelle 2 Untersuchungsergebnisse. Vorversuch und Hauptversuch

Rektaler Befund - Ergebnis MIPTEST®

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
ORIGINALMETHODE MIPTEST®						
1	TAMANCA x x	29.3.77	118	tragend	+++	
2	FERIA x x	9.5.77	77	nicht tragend	-	
3	WILMA x x	14.4.77	102	tragend	+++	
4	PATRIA x x	17.4.77	99	tragend	+++	
5	SONNENBLUME x x	26.5.77	60	nicht tragend	-	
6	OLDENBURG x x	5.5.77	81	nicht tragend	-	
7	PATRA Trak.	14.4.77	102	tragend	?	Probe wiederholt Nr. 18
8	MIRELLE Holst.	12.5.77	67	tragend	+++	

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
9	RAPP Holst.	10.6.77	41	nicht untersucht/ Wunsch des Besitzers	-	
10	TAUBNER Holst.	18.3.77	120	fraglich; Uterus vergrößert, Frucht nicht palpierbar	-	Scheidenausfluß, Pyometra
11	FINETTE Holst.	Ende April 77	ca.90	tragend	+++	
12	TOBINE Holst.	11.5.77	79	tragend	+++	
13	MARY Engl. Pony	15.5.77	69	tragend	+++	
14	WEISSE ROSE Holst.	25.5.77	67	tragend	?	
15	FONTAN Holst.	30.5.77	62	tragend	+++	
16	HUMBERTA Holst.	15.6.77	46	tragend	+++	
17	PAUL xx	1.6.77	69	nicht untersucht/ Wunsch des Besitzers	-	

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
18	PATRA Trak.	14.4.77	111	tragend	+++	
19	STEGEMANN Holst.	28.5.77	70	tragend	-	
20	FRIDERICIA Holst.	Ende Mai 77	ca. 70	nicht tragend	-	
21	ARA Hafl.	1.7.77	40	tragend	+++	
22	BIENE Hafl.	1.7.77	40	tragend	+++	
23	KÄBELE Hafl.	28.6.77	43	tragend	+++	
24	DERRA Hafl.	2.7.77	41	nicht tragend	-	
25	ANDORRA Holst.	15.5.77	89	tragend	+++	
26	TITA -	15.4.77	120	tragend	-	

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
27	NADA Holst.	6.6.77	71	fraglich; derbe Umfangvermehrung rechtes Uterushorn	-	Nachweis eines Myoms
28	CADY Holst.	28.4.77	113	tragend	++	
29	FOTBERTIN Holst.	4.7.77	48	tragend	+++	
30	SCHIMMEL Holst.	28.6.77	54	tragend	+++	
31	PAEDKE Holst.	24.6.77	61	tragend	++	
32	ROMINTEN Trak.	8.5.77	107	tragend	+	
33	BERGLICHT Trak.	5.6.77	79	tragend	++	
34	HERBSTLAND Trak.	9.5.77	106	tragend	++	
35	UNKENSPIEL Trak.	23.5.77	92	tragend	+++	

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
36	PATELLA Trak.	23.5.77	92	tragend	+++	
37	PALMA Trak.	14.5.77	101	tragend	+++	
38	HERBSTBLÜTE Trak.	17.5.77	98	tragend	+++	
	MODIFIZIERTER MIPTEST® / SAMPLER					
39	INA xx	10.5.77	110	tragend	++	
40	FRESA Holst.	27.4.77	123	tragend	++	
41	WILMA Holst.	6.4.77	144	tragend	-	
42	WATERKANT Holst.	5.4.77	145	tragend	-	
43	DEBATA Holst.	29.3.77	152	tragend	-	

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
44	OLGA Holst.	25.5.77	99	tragend	++	
45	BONNY Holst.	3.5.77	117	tragend	+++	
46	NORMA Holst.	3.5.77	117	tragend	-	
47	BATANGA Holst.	21.5.77	99	tragend	++	
48	SELMA Holst.	18.5.77	102	tragend	-	
49	NORA Holst.	21.4.77	129	tragend	?	
50	ROSALINDE Holst.	15.4.77	135	tragend	-	
51	BLÜMCHEN Holst.	17.6.77	72	tragend	++	
52	VIOLA Holst.	24.3.77	157	tragend	-	

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
53	REITH Holst.	23.4.77	127	tragend	+	
54	MARITA Holst.	7.5.77	113	tragend	++	
55	CLEOPATRA Holst.	2.5.77	118	tragend	++	
56	CHRYSANTHEME Holst.	12.5.77	108	tragend	?	
57	TARANTELLA Holst.	April oder später	?	fraglich	-	
58	SIRENE Holst.	Ende Mai 77	ca. 90	tragend	++	
59	GISELDA Holst.	2.5.77	118	tragend	-	
60	SCHAUMANN Trak.	21.6.77	70	tragend	+++	
61	HIRAGANA Trab.	21.6.77	73	tragend	+	

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
62	POLEMIK Trab.	13.5.77	112	tragend	-	
63	FABEL Trab.	11.6.77	83	tragend	++	
64	MAIBLUME Trab.	25.6.77	69	tragend	++	
65	ERIKA Trab.	4.6.77	90	tragend	+	
66	ECCOLA Trab.	7.6.77	87	tragend	+	
67	GOLDE Trab.	22.6.77	73	tragend	+++	
68	CESSIA Trab.	10.5.77	114	tragend	?	
69	FRIVOLA Trab.	12.6.77	88	tragend	++	
70	NINETTE -	9.6.77	91	tragend	++	

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
71	CAPELLA Trab.	1.6.77	105	tragend	?	ungenügende Defibrinierung
72	LAVINIA Trab.	21.5.77	121	tragend	-	
73	NIKOSIA Trab.	1.5.77	141	tragend	-	
74	SEVILLA Trab.	5.7.77	76	nicht tragend	-	
75	SUFRETTA Trab.	5.7.77	76	nicht tragend	-	
76	DORNRÖSCHEN Trab.	4.6.77	107	nicht tragend	-	
77	FONTANELLA Trab.	4.6.77	107	tragend	+	
78	MATERE Trab.	13.6.77	98	tragend	+++	
79	PHANTASIE Trab.	10.8.77	40	tragend	++	

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
80	TOLERANZ Trab.	24.6.77	87	tragend	+	
81	GISELA Trab.	12.6.77	99	nicht tragend	-	
82	PONTINA Trab.	17.7.77	64	nicht tragend	-	
83	DIOLORES Trab.	31.7.77	50	tragend	+	
84	KRONE Trab.	17.5.77	125	nicht tragend	-	
85	IMPALA Trab.	14.5.77	128	tragend	-	
86	WILDBEERE Trab.	19.5.77	123	tragend	-	
87	EDELTANNE Trak.	18.5.77	124	tragend	+++	
88	NOBLESSE Hann.	23.7.77	60	tragend	+	

Lfd. Nr.	Stute / Rasse	Deckdatum	Tage nach Bedecken	Rektaler Befund	Ergebnis MIPTEST®	Bemerkungen
89	ADURA -	17.6.77	95	nicht tragend	-	
90	DASE Hann.	8.8.77	50	tragend	+++	
91	TANJA Trak.	22.8.77	36	nicht untersucht/ Wunsch des Besitzers	-	
92	FRESIA -	25.6.77	95	tragend	++	
93	WOLKENSTEIN -	2.5.77	150	tragend	-	

Erklärungen zu Rasse

x x	=	Vollblut
Trak.	=	Trakehner
Holst.	=	Holsteiner
Hann.	=	Hannoveraner
Hafl.	=	Haflinger
Trab.	=	Traber
-	=	Kreuzung

Zeichenerklärung zu MIPTEST®

+	=	positiv, breiter Ring
++	=	positiv, normaler Ring
+++	=	positiv, dichter Ring
?	=	fraglich, peripherer, unterbrochener, undeutlicher Ring
-	=	negativ, Sediment

Die Ergebnisse des Versuches mit der Original-MIPTEST®-Methode (Vorversuch) sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt. Die Proben aus dem Serum der Stuten Nr. 9 und Nr. 17 wurden nicht berücksichtigt, da die Besitzer die rektale Trächtigkeitsuntersuchung nicht zuließen und dadurch die Möglichkeit des Vergleiches mit dem MIPTEST® nicht gegeben war. Auch das im MIPTEST® fragliche Ergebnis der rektal als tragend diagnostizierten Stute Nr. 7 wurde nicht berücksichtigt, da der Test unter Nr. 18 noch einmal wiederholt wurde. Ebenfalls ist die Stute Nr. 14 in der Tabelle nicht erfaßt, da ihr Serum im MIPTEST® als einziges dieses Versuchsdurchganges ein fragliches Ergebnis hatte. Dementsprechend wurden nur die Untersuchungsergebnisse von 34 Stuten in der Tabelle 3 ausgewertet.

Aus der Zusammenfassung der Tabelle 3 ergibt sich, daß bei insgesamt 34 Stuten nur bei zwei Tieren das Ergebnis der rektalen Trächtigkeitsuntersuchung nicht mit dem Ergebnis des MIPTEST® übereinstimmte. In beiden Fällen erbrachte der MIPTEST® falsch negative Ergebnisse, einmal bei einer Trächtigkeitsdauer von 70 Tagen (Stute 19) und einmal bei einer Trächtigkeitsdauer von 120 Tagen (Stute 26).

Insgesamt ergab sich für den Zeitraum vom 40. bis 120. Graviditätstag bei 34 untersuchten Stutenseren eine Treffsicherheit des MIPTEST® von 94,0 %. Unter Berücksichtigung des in der Tabelle nicht verwendeten fraglichen Ergebnisses des MIPTEST® (Stute 14, Graviditätsdauer 67 Tage) mindert sich die Treffsicherheit auf 91,4 %.

Im Hinblick auf den für den Gonadotropinnachweis optimalen Zeitraum vom 45. bis zum 100. Graviditätstag ergibt sich eine Treffsicherheit von 96,0 %. Wird das fragliche Ergebnis des MIPTEST® der Stute Nr. 14 mit berücksichtigt und, da dieses eine definitive Aussage nicht zuläßt, den negativen Ergebnissen zugerechnet, dann vermindert sich die Treffsicherheit bei nunmehr 26 Stuten und 2 Fehlergebnissen des Testes auf 92,3 %. Zu erwähnen ist zu diesem Zeitabschnitt der Gravidität noch, daß in drei Fällen (Stuten 21, 22, 23) der MIPTEST® bereits am 40., 40. und 43. Trächtigkeitstag positiv zeichnete.

Tabelle 3

Vergleich rektale Trächtigkeitsuntersuchung und Original-MIPTEST®, Vorversuch

Tage nach Decken	Anzahl Stuten	Übereinstimmung rekt. Untersuchung/MIPTEST®			
		nein	%	ja	%
40 - 44	4	-	-	4	100,0
45 - 100	21	1	5,0	20	95,0
101 - 110	4	-	-	4	100,0
111 - 120	5	1	20,0	4	80,0
> 120	-	-	-	-	-
gesamt	34	2	6,0	32	94,0

Im Zeitraum vom 101. bis zum 110. Trächtigkeitstage, der für den Gonadotropinnachweis als nicht mehr sehr günstig angesehen wird, betrug die Treffsicherheit des MIPTEST®, allerdings bei nur vier graviden Stuten, 100 %.

Eine weitere Ausdehnung des Prüfzeitraumes auf den 111. bis zum 120. Trächtigkeitstag minderte die Treffsicherheit des Testes auf 80,0 %.

Die Ergebnisse des Versuches mit der modifizierten MIPTEST®-Methode (Sampler 100/20; Hauptversuch) sind in der Tabelle 4 zusammengefaßt. Die Probe aus dem Serum der Stute Nr. 91 wurde nicht berücksichtigt, da der Besitzer die rektale Trächtigkeitsuntersuchung nicht zuließ und damit die Vergleichsmöglichkeit mit dem MIPTEST® nicht gegeben war. Die Stute Nr. 57 wurde in der Aufstellung nicht berücksichtigt, da das Deckdatum nicht angegeben werden konnte. Auch die Stuten Nr. 49 mit 129 Tagen Trächtigkeit, Nr. 56 mit 108 Tagen Trächtigkeit, Nr. 68 mit 114 Tagen Trächtigkeit und Nr. 71 mit 105 Tagen Trächtigkeit, bei denen das Ergebnis des MIPTEST® fraglich war, blieben unberücksichtigt. Dementsprechend wurden in der Tabelle 4 nur die Untersuchungsergebnisse von 49 Stuten erfaßt.

Aus der Tabelle 4 ist abzulesen, daß bei 14 der 49 Stuten das Ergebnis der rektalen Trächtigkeitsuntersuchung nicht mit dem Ergebnis des MIPTEST® übereinstimmte. In allen Fällen handelt es sich um negative Aussagen des MIPTEST® bei Stuten mit rektal festgestellter Trächtigkeit. Zwei Stuten hatten eine Graviditätsdauer von 102 beziehungsweise 112 Tagen, während bei den restlichen 12 Stuten die Trächtigkeitsdauer bereits relativ weit nach dem 115. Graviditätstag lag. Für alle 49 Stuten zusammen ergibt sich eine Treffsicherheit des MIPTEST® von 71,4 %. Werden die in der Tabelle nicht berücksichtigten vier fraglichen Reaktionen, bei denen eine definitive Aussage nicht möglich war, zu den negativen hinzugerechnet, dann vermindert sich die Treffsicherheit bei allen Tieren ohne Berücksichtigung der Trächtigkeitsdauer auf 66,0 %.

Tabelle 4

Vergleich rektale Trächtigkeitsuntersuchung und modifizierter MIPTEST®, 100/20 Sampler, Hauptversuch

Tage nach Decken	Anzahl Stuten	Übereinstimmung rekt. Untersuchung/mod. MIPTEST®			
		nein	%	ja	%
40 - 44	1	-	-	1	100,0
45 - 100	24	-	-	24	100,0
101 - 110	4	1	25,0	3	75,0
111 - 120	6	3	50,0	3	50,0
> 120	14	10	71,4	4	28,6
gesamt	49	14	28,6	35	71,4

Im Hinblick auf den für den Gonadotropinnachweis im Serum optimalen Zeitraum vom 45. bis zum 100. Trächtigkeitstag der Stute ergibt sich im Hauptversuch bei 25 Tieren eine Treffsicherheit des MIPTEST® von 100 %. Auch hier ist zu erwähnen, daß bei einer Stute (Nr. 79) der Test bereits am 40. Graviditätstag positiv zeichnete.

Der Zeitraum vom 101. bis 110. Trächtigkeitstage, in dem der Gonadotropingehalt im Serum der Stute bereits unter die nachweisbare Grenze gefallen sein kann, ergibt, allerdings auch nur bei insgesamt vier Tieren, eine Treffsicherheit von 75, 0 %. Wird hier ebenfalls die fragliche Testreaktion der Stute Nr. 48 mit 102 Tagen Trächtigkeit zum negativen Ergebnis hinzugezählt, dann vermindert sich die Treffsicherheit in der Zeit von 101. bis 110. Graviditätstag auf 60,0 %.

Eine weitere Ausdehnung des Prüfzeitraumes auf den 111. bis zum 120. Trächtigkeitstag verminderte die Treffsicherheit weiter auf 50,0 % und unter Einbeziehung des fraglichen Testergebnisses der Stute Nr. 62 mit 112 Trächtigkeitstagen auf 43,0 %.

Nach dem 120. Graviditätstag ist nur noch eine Treffsicherheit von 28,6 % gegeben.

In der Tabelle 5 sind die Ergebnisse der Serumuntersuchung aller Stuten mit dem Original- und dem modifizierten MIPTEST® im Vergleich zu den Trächtigkeitsbefunden zusammengefaßt. Wie bereits zu Tabelle 3 und 4 ausgeführt, wurden auch hier die Tiere mit verweigerter Rektaluntersuchung, unbekanntem Deckdatum beziehungsweise mit fraglichen MIPTEST®-Reaktionen nicht berücksichtigt.

Für die 83 Stuten ergibt sich ohne Berücksichtigung der Graviditätsdauer eine Übereinstimmung von rektalem Trächtigkeitsbefund und MIPTEST® von 80,7 %. Bei zusätzlicher Berücksichtigung der insgesamt sechs fraglichen Testreaktionen, und unter Zurechnung zu den negativen Befunden vermindert sich die Treffsicherheit auf 75,3 %.

Mit Hinblick auf den für den Gonadotropinnachweis im Serum tragender Stuten optimalen Zeitabschnitt zwischen dem 45. und 100. Graviditätstag ergibt sich unter Einbeziehung der fünf zutreffenden Testergebnisse

Tabelle 5

Vergleich rektale Trächtigkeitsuntersuchung und MIPTEST®, Original- und modifizierte Methode (Vorversuch und Hauptversuch)

Tage nach Decken	Anzahl Stuten	Übereinstimmung rekt. Unters./MIPTEST®/original u. modifiziert			
		nein	%	ja	%
40 - 44	5	-	-	5	100,0
45 - 100	45	1	2,0	44	98,0
101 - 110	8	1	12,5	7	87,5
111 - 120	11	4	36,4	7	63,6
> 120	14	10	71,4	4	28,6
gesamt	83	16	19,3	67	80,7

vor dem 45. Trächtigkeitstag eine Treffsicherheit des MIPTEST® von 98,0 %. Wird allerdings das fragliche Testergebnis der Stute Nr. 14 (Graviditätsdauer 67 Tage) berücksichtigt und den negativen Testergebnissen zugerechnet, vermindert sich die Übereinstimmung des MIPTEST® mit den rektal erhobenen Trächtigkeitsbefunden auf 96,0 %.

Der Zeitraum zwischen dem 101. und 110. Trächtigkeitstage mit dem bereits fortschreitenden Gonadotropinabfall im Serum gravider Stuten zeigt eine Treffsicherheit von 87,5 %. Sie wird allerdings bei Hinzufügen der in diesem Zeitraum festgestellten fraglichen Testreaktionen (Stuten Nr. 48, 56, 71; Trächtigkeit 102, 108, 105 Tage) zu den negativen Ergebnissen auf 63,6 % gemindert.

Der Zeitraum vom 111. bis zum 120. Trächtigkeitstage ergibt nur noch eine Treffsicherheit des Testes von 63,6 %, die bei Zurechnung der fraglichen Testergebnisse (Stuten Nr. 62, 68; Trächtigkeit 112, 114 Tage) auf 53,8 % absinkt. Nach dem 120. Graviditätstag fällt die Treffsicherheit auf 28,6 % stark ab, wenngleich auch noch einzelne positive Testergebnisse zu erwarten sind.

Durch die Verwendung von Samplern (100 und 20 Mikroliter) wurde die Ergiebigkeit der Originalpackung MIPTEST® von fünf Tests (plus einer Prüfung der Reagenzien) auf durchschnittlich 15 Tests erhöht. Damit konnte der Produktkostenanteil um zwei Drittel gesenkt werden. Die Anschaffung der relativ teuren Sampler ammortisierte sich schon aus der dreifach höheren Nutzung einer einzigen Originalpackung.
Die Sensibilität der Reaktion wird nach den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen nicht beeinträchtigt. Die Intensität der Reaktion (als Ringbildung oder Sedimentation) wird, rein subjektiv gesehen, allerdings geringgradig vermindert. Nach Aufwärmen von Reagenzien und Serum auf Zimmertemperatur waren für die Durchführung eines serologischen Tests mit den Samplern etwa zwei Minuten erforderlich.

Die Ergebnisse des MIPTEST® konnten während des Vor- und Hauptversuches überwiegend nicht in der vom Hersteller versprochenen Zeit von zwei Stunden abgelesen werden. Nach vier Stunden war dagegen das Ergebnis immer deutlich ablesbar.

5. DISKUSSION

Die Trächtigkeitsdiagnose hat in der Pferdezucht wegen der nur kurzen Deckperiode im Frühjahr eine besondere Bedeutung. Bereits vor dem 21. Tag nach der Bedeckung sollte die Befruchtung einer Stute festgestellt oder ausgeschlossen werden. Durch die in diesem Zeitabschnitt nur über die rektale Exploration mögliche Graviditätskontrolle kann eine bestehende Trächtigkeit festgestellt und bei einer möglicherweise auftretenden "falschen Rosse" eine in der Regel einen Abort provozierende erneute Bedeckung vermieden werden, zu anderem ist bei Nichtbefruchtung dagegen eine wiedereintretende Rosse für eine erneute Bedeckung zu nutzen.

Der Wert der Frühdiagnose einer Gravidität bei der Stute wird jedoch durch Fruchtresorption und unbemerktem Frühabort, die den Fortbestand der Trächtigkeit in einem relativ weiten Zeitraum beenden können, entscheidend eingeschränkt. Dadurch ergibt sich die Notwendigkeit der langfristigen Überwachung der Trächtigkeit, wenn nötig durch eine wiederholte Untersuchung, die nach dem 40. Tag der Befruchtung unter Vermeidung der direkten rektalen Exploration indirekt durch den biologischen, chemischen oder immunologischen Nachweis bestimmter, bei bestehender Trächtigkeit im Serum oder Harn vermehrt auftretender Hormone möglich wird.

Der "Schwund" an Trächtigkeiten durch Fruchtresorption beträgt nach MERKT (1966) fast 10 % mit erhöhter Wahrscheinlichkeit nach der Bedeckung in der Fohlenrosse. Ähnliche hohe "Verluste" der Trächtigkeit beim Vergleich des Abfohlergebnisses mit den Befunden der rektalen Untersuchung konstatierten auch GÖTZE (1947), STEGEMANN (1950), DAY (1957, zit. n. MERKT, 1966), BAIN (1957, zit. n. MERKT, 1966) und KNIGHT (1977). Die embryonale Mortalität vor dem 40. Tag führt nicht zu positiven PMSG-Nachweisen, da die "endometrial cups" noch nicht angelegt sind. Gleichwohl bleibt der Wiedereintritt der Rosse etwa 60 Tage durch eine verlängerte Lebensdauer des Corpus luteum verzögert (ALLEN, 1970). Bei Absterben der Frucht mit Resorption oder unbeobachtetem Abort nach dem 40. Tag der Befruchtung ist der Stimulus zur

Bildung der "endometrial cups" vom Fetus schon erfolgt (ALLEN u. MOOR, 1972) und ein positiver PMSG-Nachweis möglich. MITCHELL (1971) fand positive Reaktionen im HHT noch bis zu 62 Tagen nach dem Absterben der Frucht (durchschnittlich bis 117 Tage nach der Befruchtung).

Bei der experimentellen Entfernung der Frucht durch Hysterektomie (ALLEN, 1970) dauert die Rückkehr zur Rosse bis zu drei Monaten, obwohl das Corpus luteum schon zwei Wochen nach der Operation verschwindet. Der Anstoß zur PMSG-Produktion hat bereits stattgefunden, ein positiver PMSG-Nachweis ist möglich. Aber es ist schwer zu erklären, warum hohe PMSG-Spiegel dann keinen gonadotropen Effekt (follikelstimulierend oder luteinisierend) am Ovar der Stute hervorrufen und warum follikuläre Aktivität erst wieder beginnt, wenn die "endometrial cups" ihre Funktion eingestellt haben. ALLEN (1970) vermutete in diesem Zusammenhang sogar eine "aktiv antigonadotrope" Wirkung bei der Stute.

Nach NIEKERK (1965 b) findet Fruchtresorption zwischen dem 25. und 31. Tag nach der Befruchtung mit einer Zwischenöstruszeit von 40 bis 80 Tagen statt. Bei der Sektion solcher Stuten fand er "kaugummiähnliche" Gebilde mit zum Teil noch erkennbaren Resten des Embryo im Uteruslumen.
DAY (1970, zit. n. ALLEN, 1970) fand bei der routinemäßigen vaginalen Untersuchung erneut rossiger Stuten 21 bis 23 Tage alte Embryonen in der Scheide, die beim Einführen des Spekulums abgingen.

Die Meinungen über den Zeitraum, in dem diese Verluste eintreten, sind nicht einheitlich, wobei nach der Befruchtung angegeben werden von EWART (1898) zwischen dem 42. und 63. Tag, von JENNINGS (1941) zwischen dem 43. und 90. Tag, von HANCOCK (1948) zwischen dem 35. und 70. Tag, NISHIKAWA (1959) um den 150. Tag, ARTHUR (1966/68) zwischen dem 23. und 105. Tag (alle Verfasser zit. n. COX in ALLEN, 1970). NIEKERK (1965 b) gibt den Zeitraum zwischen dem 25. und 31. Tag nach der Befruchtung an und MERKT (1966) findet das Einsetzen der Resorption überwiegend im zweiten Monat der Trächtigkeit im engen Zusammenhang mit der maximalen Milchleistung der Fohlenstuten zu diesem Zeitpunkt und mit der Konzeption in der Fohlenrosse (10 % Resorption nach Bedeckung in der Fohlenrosse gegenüber 2 % bei nicht säugenden Stuten).

MITCHELL und ALLEN (1975) fanden bei einer Untersuchung von 95 nachgewiesenen tragenden Jährlingsstuten über vier Deckperioden die hohen, 46 % betragenden Trächtigkeitsverluste etwa gleichmäßig verteilt zwischen dem 60. und 140. Tag nach der Befruchtung. Die Zeit, in der PMSG nach Abort oder Resorption nachweisbar blieb, betrug im Durchschnitt 134 Tage nach der Bedeckung, etwa gleich lang wie bei den nicht verfohlenden Stuten (durchschnittl. 129 Tage). Gleichzeitig gemessene Progesteronspiegel zeigten dabei meist einen typischen Verlauf: plötzlicher Abfall um die Zeit des Abortes oder langsamer Abfall vor dem Abort, der eintrat, kurz bevor oder direkt nachdem die Plasmaspiegel unter 1 ng/ml fielen. Die Plasmaprogesteronbestimmung ist ein geeignetes Hilfsmittel zum Ausschluß der Trächtigkeit (bei Werten unter 1 ng/ml). Zur positiven Diagnose der Trachtigkeit ist die Metnode jedoch nicht geeignet. Höhere Spiegel als 1 (- 4) ng/ml beweisen keine Trächtigkeit, sondern nur ein funktionales Corpus luteum (ROSSDALE u. RICKETSS, 1974). Der Nachweis von hohen Östrogenspiegeln im chemischen (CUBONI) und im biologischen (ALLEN-DOISY) Test ist, wenn auch spezifisch für die Trächtigkeit, nicht beweisend. Harnöstrogene in einer, für eine Gravidität sprechenden Menge, können nämlich auch bei Ovarialzysten, Nymphomanie oder chronischer Endometritis nachgewiesen werden (KUST, 1932; COX, 1971). Der Harnöstrogentest hat außerdem eine geringere Bedeutung bei der Trächtigkeitsfeststellung der Stute, weil er erst in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit angewendet werden kann. Dann ist nämlich das Risiko der Fruchtresorption und eines unbemerkten Abortes ausgeschlossen.

Der Nachweis der Herztöne des Fetus (FRASER u. ROBERTSON, 1967; 1968; FRASER et al., 1973) mit Ultraschall ist schließlich der einzige Test, der in der ersten Hälfte der Trächtigkeit einen lebenden Fetus nachweist. Die Palpation des lebenden Fetus gelingt erst in der zweiten Hälfte.

Wie bereits oben angeführt, besteht das Wesen der Trächtigkeitsdiagnose demnach nicht nur in der positiven Trächtigkeitsaussage, wie sie dem Besitzer der Stute entgegen kommt, sondern auch und vor allem in der Feststellung des sexuellen Zustandes der Stute in der Zeit zwischen dem

19. und 100. Tag nach der Bedeckung beziehungsweise bis zum Ende der Decksaison. Nur so können eventuell notwendige therapeutische Maßnahmen ergriffen werden, die bei Nichtträchtigkeit eine erneute Zuführung der Stute zum Hengst so schnell wie möglich innerhalb der kurzen Decksaison ermöglichen. Auch bei der Herbstuntersuchung ist der sichere Ausschluß einer Trächtigkeit wichtig, damit die güste Stute schon im späten Winter auf eine neue Konzeption vorbereitet werden kann.

Unter diesen Gesichtspunkten sind die mit dem HHT (MIPTEST®) in den eigenen Versuchen erzielten Ergebnisse für die Trächtigkeitsdiagnose in der kritischen Zeit zu betrachten. Für die praktische Brauchbarkeit des HHT sind die Kriterien Treffsicherheit, Empfindlichkeit, technische Handhabe und Anwendungskomfort sowie der nutzbare Untersuchungszeitraum zu beurteilen.
Mit einer im Vergleich zur rektalen Untersuchung richtigen Aussage von 96,0 % (Originalmethode) und 100 % (Sampler) für den Untersuchungszeitraum 40 bis 100 Tage beziehungsweise von 96,6 % (Originalmethode) und von 96,6 % (Sampler) für den erweiterten Untersuchungszeitraum 45 bis 110 Tage nach der Bedeckung ist die Treffsicherheit durchaus vergleichbar mit der von anderen PMSG-Nachweismethoden (Mäusetest, Kaninchentest, Froschtest, Geldiffusionstest), die für den gleichen Untersuchungszeitraum infrage kommen, oder im Ergebnis besser sind (siehe Tabelle 1).

In der Dauer der Empfindlichkeit ist der Mäusetest jedoch höher einzuschätzen als der immunologische. Nach JEFFCOTT et al. (1969) reagiert der Mäusetest bei Konzentrationen von > 1,0 I.E. PMSG/ml Serum, der MIPTEST® bei > 3,1 I.E. PMSG/ml. Nach McCAUGHEY u. O'BRIEN (1973) liegt die Empfindlichkeitsschwelle für den Mäusetest bei > 1,0 I.E. PMSG/ml, für MIPTEST® bei > 5,0 I.E. PMSG/ml, für den Geldiffusionstest bei > 10,0 I.E. PMSG/ml. ZETTL (1974) konnte bei einer Anzahl Proben mit negativem HHT zwischen dem 121. und 161. Tag noch einen positiven Mäusetest durchführen.
Die längere Nachweisbarkeit der nach dem 100. Tag der Trächtigkeit abfallenden PMSG-Konzentrationen mit dem Mäusetest beruht offenbar auf

der höheren Empfindlichkeit der Versuchstiere und auf unterschiedlichen biologischen und immunologischen Eigenschaften des Hormons (SCHMIDT, 1968).
Praktische Bedeutung hat die unterschiedliche Empfindlichkeit für die Untersuchung von Proben, die aus einer Trächtigkeit zwischen 115 und 150 Tagen stammen. Jedoch ist eine weitgehend sichere Aussage in dieser Zeit weder aus dem Blut noch aus dem Harn zu erwarten (ALLEN-DOISY = 98,0 %; CUBONI = 98,0 % Sicherheit). Irreversible Entscheidungen wie Verkauf oder Tötung sollten auch grundsätzlich nicht aufgrund der Befunde von indirekten Nachweismethoden getroffen werden.
In Anwendungskomfort und Reaktionszeit bietet der HHT (MIPTEST®) gegenüber den anderen indirekten Nachweismethoden erhebliche Vorteile, vor allem gegenüber den biologischen (Mäuse-, Kaninchen- und Froschtest), die für Routineuntersuchungen unter Praxisbedingungen kaum infrage kommen.

Anhand der Ergebnisse der eigenen Untersuchungen und der vergleichenden Literatur kann die Aussagefähigkeit des HHT (MIPTEST®) der des Mäusetestes gleichgestellt werden für den Untersuchungszeitraum 45. bis 100. Tag nach der Bedeckung. Der ansteigende Prozentsatz von Fehlresultaten nach der Hauptausscheidungszeit von PMSG (45. bis 110. Tag) ist auch durch sensiblere Tests (Mäusetest) nicht auszuschließen, da die Ausscheidungsraten individuell unterschiedlich hoch und lange anhalten.

Die für den Hauptversuch verwendete modifizierte Durchführung des Testes (siehe Abs. 3.2.2., 3.2.3.) bietet bei im Vergleich zur Originalmethode unveränderten Ergebnissen vor allem im Anwendungskomfort und in den Untersuchungskosten deutliche Vorteile.

Die rektale Untersuchung zur Trächtigkeitsdiagnose der Stute ist nach dem derzeitigen Wissensstand durch keine andere Nachweismethode zu ersetzen. Sie bringt durch den direkten Nachweis der Frucht eine höhere diagnostische Sicherheit als der indirekte Nachweis der trächtigkeitsspezifischen Hormone. Jedoch sind auch bei der rektalen Untersuchung Fehlergebnisse nicht vermeidbar (GÖTZE, 1947; STEGEMANN, 1950; KNIGHT, 1977).

Daraus wird deutlich, daß keine Methode der Trächtigkeitsfeststellung bei der Stute eine 100 %ige diagnostische Sicherheit bietet. Die momentane Trächtigkeitsdiagnose, die nur für den Tag der Untersuchung attestiert werden kann, ist in der kritischen Zeit der Frühträchtigkeit nur sinnvoll als Bestandteil einer planmäßigen gynäkologischen Trächtigkeits- beziehungsweise Fruchtbarkeitsüberwachung.
Der HHT (MIPTEST®) bietet sich dazu als einfaches, schnelles, sicheres und nicht zuletzt wirtschaftliches Diagnostikum für die Praxis an. In allen Fällen, wo die rektale Untersuchung wegen eines zu hohen Sicherheitsrisikos für den Untersucher oder aus anderen Gründen nicht infrage kommt, empfiehlt sich die Anwendung des HHT von selbst. Auch zur Absicherung von fraglichen Befunden (Verdacht auf Pyometra, Neubildungen im Uterus) ist das Ergebnis des HHT in wenigen Stunden verfügbar. Die retrospektive Diagnose der Trächtigkeit nach Fruchtresorption oder Frühabort durch den immunologischen Nachweis des Serumgonadotropins ist eine wichtige Voraussetzung für die einzuleitende Therapie.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Ein kommerzieller Hämagglutinationshemmungstest (MIPTEST®) wurde im Vergleich zur rektalen Untersuchung an 93 Stuten mit Trächtigkeitsdauer von 36 bis 157 Tagen geprüft. Hiervon wurden 83 Stuten in den Tabellen berücksichtigt. Der vom Hersteller empfohlenen Originalmethode (34 Proben) wurde eine abgewandelte (49 Proben) gegenübergestellt, die auf der Benutzung von kleineren Mengen der Reagenzien und von Samplern statt Tropfpipetten basiert.

Stutenserum, Antiserum und Kontrollserum wurden mit 100 Mikroliter Samplern dosiert, Hemmlösung, Pufferlösung und Zellsuspension mit 20 Mikroliter Samplern.

Die Ergebnisse der abgewandelten Testdurchführung entsprechen denen der Originalmethode. Für den Untersuchungszeitraum 40 bis 100 Tage ergab sich eine Übereinstimmung der Ergebnisse mit HHT mit denen der rektalen Untersuchung von 100,0 % (Sampler) beziehungsweise 96,0 % (Original), für den erweiterten Untersuchungszeitraum 40 bis 110 Tage von 96,6 % (Sampler) beziehungsweise 96,6 % (Original).
Insgesamt ergab sich eine hohe Übereinstimmung der Ergebnisse des HHT mit denen der rektalen Untersuchung von 98,0 % und bei Zuordnung einer fraglichen Reaktion zu den negativen von 96,0 % für den Untersuchungszeitraum 40 bis 100 Tage, für den erweiterten Untersuchungszeitraum von 40 bis 110 Tagen von 96,5 %, bei Zuordnung der vier fraglichen Reaktionen zu den negativen von 90,3 %.
45 bis 100 Tage Trächtigkeitsdauer werden als optimaler Untersuchungszeitraum angesehen. Die Erweiterung des Zeitraumes um 10 Tage auf 110 Graviditätstage birgt einen geringen Verlust an Treffsicherheit. Nach dem 110. Tag der Trächtigkeit ergeben sich jedoch steigend Fehlergebnisse, so daß nach diesem Zeitpunkt die Durchführung des HHT nicht mehr zu empfehlen ist.

SUMMARY

A commercial haemagglutinationinhibitionassay (MIPTEST®) has been tested in comparison to rectal palpation in 93 mares in different stages of pregnancy (36 - 157 days). 83 mares were taken in the evalution only. The original method (34 samples) has been compared with a different method using samplers and smaller amounts of reagents (49 samples).

Mareserum, antiserum and control serum have been calibrated with 100 microlitre samplers, inhibitor, neutralizer and cell suspension with 20 microlitre samplers.

The results of the changed test procedure correspond to those of the original method. For the test period 40 - 100 days of pregnancy agreement with the results of rectal palpation was 100,0 % for the sampler method, 96,0 % for the original method. For the prolonged testperiod 40 - 110 days it was 96,6 % resp. 96,6 %.
The total agreement of the results of the HIA with rectal palpation was 98,0 % for the test period 40 - 100 days, and 96,5 % for 40 - 110 days, in addition of the questionable results to the negatives 96,0 % resp. 90,3 %.
45 - 100 days pregnancy duration are to be taken as optimal test period. The prolonged period of 40 - 110 days already brings a small loss of accuracy. After the 110th day of pregnancy there is quite a high degree of disagreement. Therefore the test should not be carried out after this period.

7. LITERATURVERZEICHNIS

ALBRECHTSEN, J. (1918) — Die Sterilität der Stute. Verlag Ferdinand Enke, Stuttgart

ALLEN, W.R. (1970) — Endocrinolygy of early pregnancy in the mare. Equine Vet. J. 2, 64-70

ALLEN, W.R. u. R.M. MOOR (1972) — The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblasts cells. J. Reprod. Fert. 29, 313-316

ALLEN, W.R., J.E. COX u. J. NEWCOMBE (1977) — Laboratory methods of equine pregnancy diagnosis (letter). Vet. Rec. 100, 536

ARTHUR, G.H. (1969) — The ovary of the mare in health and disease. Equine Vet. J. 1, 153-156

ARTHUR, G.H. (1975) — Veterinary Reproduction & Obstetrics Baillière Tindall, London

ASCHHEIM, S. u. B. ZONDEK (1928) — Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorderlappenhormons. Klin. Wschr. 7, 1404-1411

BAIN, A.M. (1967) — The manual diagnosis of pregnancy in the thoroughbred mare. N. Z. Vet. J. 15, 227-230

BARNES, R.J., R.W. NATHANIELSZ, P.D. ROSSDALE, R.S. COMLINE u. M. SILVER (1975)
Plasma progesterons and oestrogens in fetus and mother.
J. Reprod. Fert. (Suppl.) 23, 617-623

BENESCH, F. (1924)
Die Diagnose der Trächtigkeit bei der Stute, die Sterilität und ihre Behandlung (künstliche Befruchtung).
Verlag Walter Richter, Leipzig

BERTHELON, M. u. D. RAMPIN (1970)
Le diagnostic immunologique de la gestation chez la jument.
Rev. méd. vét. 121, 1089-1104

BOGUTH, W. (1951)
Über eine Modifikation der Cuboni-Reaktion zur Schwangerschaftsdiagnose bei der Stute.
Mh. pr. Tierhkd. 3, 168

BRAZEL, E. (1950)
Neuer, beschleunigter Trächtigkeitsfrühnachweis bei Stuten.
Dt. tierärztl. Wschr. 57, 62-65

COLE, H.H. u. H.H. HART (1930)
The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in affecting the sexual maturity of the immature rat.
Am. J. Physiol. 93, 57-68

CONSTANTIN, M. (1971)
Diagnostic de la gestation chez la jument par la methode Galli-Mainini.
Vet. med. Diss., Paris

COWIE, A.T. (1948)
Pregnancy diagnosis tests; a review.
Commonwealth Agricultural Bureaux Joint Publication, No. 13, Great Britain

COX, J.E. u. C.S. GALINA (1970)
A comparison of the chemical tests for oestrogens used in equine pregnancy diagnosis.
Vet. Rec. 86, 97-100

COX, J.E. (1971)
Urine tests for pregnancy in the mare.
Vet. Rec. 89, 606-607

CUBONI, E. (1934)
Una rapida reazione di gravidanza nella cavalla.
Clin. Vet. Milan. 57, 85-93

CUBONI, E. (1958)
Neuere Hinweise zur Ausführung der Trächtigkeitsdiagnose bei der Stute.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 71, 108-110

DAWSON, F.L.M. (1977)
Recent advances in equine reproduction.
Equine Vet. J. 9, 4-11

DESCHANEL, J.P., J. FERNEY u. M. BONIN (1969)
Diagnostic immunologique de la gestation sur la jument.
Bull. Soc. Sci. Vét., Lyon, 71, 283-286

DIMOCK, W.W. u. M.G. FINCHER (1928)
Early examinations for pregnancy in the mare.
Cornell Vet. 1, 49-54

FRASER, A.F. u. J.G. ROBERTSON (1967)
The detection of foetal life in ewes and sows.
Vet. Rec. 80, 528-529

FRASER, A.F. u. J.G. ROBERTSON (1968)
Pregnancy diagnosis and detection of foetal life in sheep and pigs by an ultrasonic method.
Brit. vet. J. 124, 239-243

FRASER, A.F., V. NAGARATNAM u. R.B. CALLICOTT (1971)
The comprehensive use of doppler ultra-sound in farm animal reproduction.
Vet. Rec. 88, 202-205

FRASER, A.F., N.W. KEITH u. H. HASTIE (1973)
Summarised observations on the ultrasonic detection of pregnancy and foetal life in the mare.
Vet. Rec. 92, 20-21

GINTHER, O.I. (1974)
Occurence of anestrus, diestrus and ovulation over a 12-month period in mares.
Am. J. vet. Res. 35, 1173-1179

GÖTZE, R. (1940 a)
Die Feststellung der Schwangerschaft beim Pferde.
Dt. tierärztl. Wschr. 15, 165-167

GÖTZE, R. (1940 b)
Rosse und Ovulation.
Dt. tierärztl. Wschr. 17, 191-193

GÖTZE, R. (1947)
Fortschritte in der Frühdiagnose der Schwangerschaft beim Pferd.
II. Rektale Untersuchung.
Dt. tierärztl. Wschr. 45/46, 341-344

GROTE, H. (1951)
Untersuchung auf die Eignung des grünen Wasserfrosches (Rana esculenta) zur hormonalen Schwangerschafts-diagnose.
Vet. med. Diss., Hannover

HART, G.H. u. H.H. COLE (1932)
A practical method for the diagnosis of pregnancy in the mare.
J. Am. vet. med. Ass. 80, 604-614

HENDRIKSEN, S.A. (1967) Undersøgelser vedrørende biologisk draegtighetsdiagnostik hos hopper. Nord. Vet. Med. 19, 585-591

HENDRIKSEN, S.A. u. J.B. JØRGENSEN (1972) Draegtighetsdiagnstik hos hopper. Nord. Vet. Med. 24, 17-20

HUGHES, J.P., G.H. STABENFELDT u. J.W. EVANS (1975) The oestrus cycle in the mare. J. Reprod. Fert. (Suppl.) 23, 161-166

HUHOLD, K. u. H. LANGE (1967) Praktische Erfahrungen mit dem Trächtigkeitstest nach P. Rommel bei der Stute. Mh. Vet. Med. 22, 968-972

IRWIN, C.F.P. (1975) Early pregnancy testing and its relationship to abortion. J. Reprod. Fert. (Suppl.) 23, 485-488

JEFFCOTT, L.B., J.G. ATHERTON u. J. MINGAY (1969) Equine pregnancy diagnosis. A comparison of two methods for the detection of gonadotrophin in serum. Vet. Rec. 84, 80-83

KNIGHT, P.R. (1977) Rectal examination for pregnancy in the mare. Aust. vet. J. 52, 292

KÖHLER, L. u. A. ALLMELING (1977) Persönliche Mitteilung

KÜST, D. (1932) Die Trächtigkeitsfeststellung bei der Stute durch Hormonnachweis im Blut. Dt. tierärztl. Wschr. 40, 713-714

KÖST, D. u. F. SCHAETZ (1977)
Fortpflanzungsstörungen bei den Haustieren.
Verlag Ferdinand Enke, Stuttgart

LAGNEAU, F. (1970)
Diagnostic immunologique de la gestation chez la jument.
Rec. méd. vét. 146, 987-998

LEPEL, J. Frhr. v. (1976)
Follikelkontrolle und Trächtigkeitsuntersuchung beim Pferd.
Prakt. Tierarzt 57, 143-148

LUTTMANN, U. u. J. Frhr. v. LEPEL (1971)
Die Trächtigkeitsdiagnose bei der Stute mit einem Hämagglutinationshemmungstest im Vergleich zum Mäuseversuch und zur rektalen Untersuchung.
Dt. tierärztl. Wschr. 78, 270-272

McCARTHY, C. u. G.W. PENNINGTON (1966)
A preliminary study of the immunoelectrophoretic properties of pregnant mares serum (PMS) together with its application to the diagnosis of pregnancy in the mare.
Experientia, 22, 33-35

McCAUGHY, H. u. J. O'BRIEN (1973)
A comparison of three laboratory tests for pregnancy in the mare.
Equine Vet. J. 5, 94-95

MERCKT, H. (1966)
Fohlenrosse und Fruchtresorption.
Zuchthygiene 1, 102-108

MERCKT, H. (1968)
Embryonale Fruchtresorption und Zwillingsträchtigkeit.
Berl. Münch. Tierärztl.Wschr. 81, 369-370

MILLER, W.C. u. F.T. DAY (1938) The diagnosis of equine pregnancy. J. Royal Army Vet. Corps. 10, 95-106

MITCHELL, D. (1971) Early fetal death and a serumgonadotrophin test for pregnancy in the mare. Can. vet. J. 12, 41-44

MITCHELL, D. u. W.R. ALLEN (1975) Observation on reproduction performance in the yearling mare. J. Reprod. Fert. (Suppl.) 23, 531-536

MONTAGUT, G. (1970) Diagnostic immunologique de la gestation chez la jument. Vet. med. Diss., Toulouse

NETT, T.M., D.W. HOLTAN u. V.L. ESTERGREEN (1973) Plasma estrogens in pregnant and postpartum mares. J. Anim. Sci. 37, 962-970

NIEKERK, C.H. van (1965 a) I. Early clinical diagnosis of pregnancy in mares. J.S. Afr. vet. med. Ass. 36, 53-58

NIEKERK, C.H. van (1965 b) II. Early embryonic resorption in mares (A preliminary report). J.S. Afr. vet. med. Ass. 36, 61-69

NIEKERK, C.H. van (1965 c) The early diagnosis of pregnancy, the development of the foetal membranes and nidation in the mare. J.S. Afr. vet. med. Ass. 36, 483-488

OSSWALD, R.H. (1951) Der Schwangerschaftsnachweis bei der Stute mit Rana esculenta. Vet. med. Diss., Gießen

PRIMUS, K. (1952) Erfahrungen mit der Boguthschen Modifikation der Cuboni-Reaktion zur Schwangerschaftsdiagnose bei der Stute. Tierärztl. Umschau 7, 126-129

ROMMEL, P. (1963) Untersuchungen zum indirekten Trächtigkeitsnachweis bei der Stute durch chemische Östrogenbestimmung im Urin. Mh. Vet. Med. 18, 103-107

ROMMEL, P. u. A. ZSCHINTSCH (1977) Graviditätsnachweis bei der Ponystute durch Östrogennachweis im Harn. Mh. Vet. Med. 32, 221-223

ROSSDALE, P.D. u. S.W. RICKETTS (1974) The practice of equine stud managment. Baillière Tindall, London

SANTAMARINA, E. u. L.L. JOVEN (1960 a) The effect of time and temperatur on the gonadotrophic potency of pregnant mare serum. Am. J. vet. Res. 21, 585-590

SANTAMARINA, E. u. L.L. JOVEN (1960 b) Factors influencing accuracy of a gonadotrophin test for pregnancy in mares. J. Am. vet. med. Ass. 137, 522-524

SCHMIDT-HOENSDORF, H. (1951) Über die Brauchbarkeit von Kröten zum Hormonnachweis in der Tiermedizin. Vet. med. Diss., München

SCHMIDT, O. (1968) Über die immunologische Prüfung von Graviditätsgonadotropinen unter besonderer Berücksichtigung der Hämagglutinations-Hemmungsreaktion und der Verhältnisse des Pregnant Mare Serum Gonadotropin. (Eine Literaturübersicht) Vet. med. Diss., Humboldt-Universität, Berlin

SOLOMON, W.J. u. B. HOFF (1969) An immunologic pregnancy test for mares. J. Am. vet. med. Ass. 155, 42-44

STEGEMANN, F. (1950) Über die rektale Frühfeststellung der Trächtigkeit der Stuten. Vet. med. Diss., Hannover

VINDEVOGEL, H. (1972) Comparaison des deux tests biologiques pour la mise en evidence du PMS dans le serum de la jument gravide. Ann. Méd. Vét. 116, 83-91

WIDE, L. u. M. WIDE (1963) Diagnosis of pregnancy in mares by an immunological method. Nature, London 198, 1017-1018

WITHERSPOON, D. u. R.B. TALBOT (1970) Nocturnal ovulation in the equine animal. Vet. Rec. 87, 302-304

WOHANKA, K. (1961) Untersuchungen über die Ursachen des Verfohlens. Proc. IV Int. Kongress für Tierische Fortpflanzung, Den Haag 3, 622-629

WORMSTRAND, A (1969) Immunological pregnancy diagnosis in the mare.
Acta vet. scand. 10, 299-308

ZETTL, K. (1974) Die immunologische Trächtigkeitsdiagnose bei der Stute und ihre Sicherheit.
Tierärztl. Umsch. 29, 123-130

ZONDEK, B. (1931) Die Hormone des Ovarium und des Hypophysenvorderlappens.
Springer, Berlin

Herrn Prof. Dr. H.J. Heidrich danke ich für die Auswahl des Themas und für seine Hilfen bei der Auswertung der Versuche und bei der redaktionellen Bearbeitung.

Besonders dankbar erwähnen möchte ich Herrn Dr. Karl Lippegaus, Fachtierarzt für Pferde, Klinik Sarstedt, dessen steter Unterweisung ich die Sicherheit in der Technik der rektalen Trächtigkeitsdiagnostik bei der Stute verdanke.

Mein Dank gilt auch den Herren Drs. Günther Allmeling und Lothar Köhler, Klinik Wahlstedt, in deren Praxis ich die vorliegenden Untersuchungen durchführen konnte, für ihre stete Hilfsbereitschaft.

Lebenslauf

Name	:	Degenhardt
Vorname	:	Johannes Konrad
Geboren	:	27. Februar 1944 in Heiligenstadt/E.
Eltern	:	Prof. Johannes Degenhardt Else Degenhardt, geb. Niemeyer
Beruflicher Werdegang	:	1963 Abitur Altes Gymnasium zu Bremen
		1963-65 Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
		1966-68 Studium Tierärztliche Hochschule Wien
		1969-71 Studium und Staatsexamen an der Freien Universität Berlin
		1971 Bestallung als Tierarzt Schlachthoftätigkeit, Berlin
		1971-76 Wiss. Mitarbeiter Bayer AG, Leverkusen
		1976-78 Gastassistent bzw. Assistent an - Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere, FU Berlin - Tierärztl. Klinik Sarstedt, Dr. Lippegaus - Tierklinik Wahlstedt, Dr. Allmeling, Dr. Köhler - Tierklinik Wattenscheid, Dr. Cronau - Lexington, Kentucky, USA - HAGYARD, DAVIDSON u. McGEE